

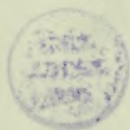
Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik im Klinikum
Charlottenburg der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Frau Prof.Dr.M.Alexander

INDUKTION PEROXYSOMALER UND MITOCHONDRIALER ENZYMSYSTEME
DER LEBER MIT CLOFIBRINSÄURE UND SCHÄDIGUNGSMODELLE.

- Thioacetamidnekrose und experimentelle Cholangiolitis
durch ANIT. -

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Horst Schneiders
aus Aachen





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546605_0016

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik im Klinikum
Charlottenburg der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Frau Prof.Dr.M.Alexander

INDUKTION PEROXYSOMALER UND MITOCHONDRIALER ENZYMSYSTEME
DER LEBER MIT CLOFIBRINSÄURE UND SCHÄDIGUNGSMODELLE.

- Thioacetamidnekrose und experimentelle Cholangiolitis
durch ANIT. -

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Horst Schneiders
aus Aachen

Referent: Prof.Dr.med. I.Schlicht
Korreferent: Prof.Dr. A.Hildebrandt

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 23.11.1983

INHALTSVERZEICHNIS

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	S.5
 <u>I. EINLEITUNG</u>	
I.1. Hepatomegalie als Wirkung von Clofibrat	S.6
I.2. Veränderungen an den Peroxysomen durch Clofibrat	S.7
I.3. Clofibrat induzierte Aktivitätszunahme der Catalase	S.8
I.4. Zunahme an Carnitin-Acyl-Transferase(CAT)	S.9
I.5. Mögliche Clofibratwirkungen im Lipidstoffwechsel	S.9
I.6. Clofibratwirkungen an den Mitochondrien	S.11
I.7. Hormoneinfluß und Clofibratwirkung	S.12
I.8. Arzneimittelmetabolismus und Clofibrat	S.12
I.9. Weitere Clofibratwirkungen	S.13
I.10. Zur Hepatotoxizität von Thioacetamid	S.13
I.11. Zur Hepatotoxizität von ANIT	S.15
I.12. Schädigungsmodelle der Leber und Clofibrat	S.17
 <u>II. MATERIAL UND METHODEN</u>	
II.1. Tiermaterial und Tierhaltung	S.19
II.2. Substanzen	S.19
II.3. Versuchsanordnung und Materialgewinnung	S.19
II.4. Chemische Untersuchungen im Serum	S.22
II.5. Histologie und Statistik	S.22
 <u>III. ERGEBNISSE</u>	
III.1. Gewicht und Relatives Lebergewicht	
III.1.A. Verlauf bei der Gabe von TAA	S.23
III.1.B. Verlauf bei der Gabe von ANIT	S.23
III.2. Futterverbrauch und Überlebensrate	
III.2.A. Futterverbrauch	S.30
III.2.B. Überlebensrate	S.30
III.3. Blutchemische Untersuchungen	
III.3.A. Siebentägige Vorbehandlung mit Clofibrinsäure und einmalige Gabe von TAA	S.33

III.3.B. Blutchemische Untersuchungen nach einmaliger Gabe von ANIT und siebentägiger Vorbehandlung mit Clofibrinsäure	S.40
III.4. Histologie	
III.4.A. Feingewebliche Veränderungen an der Leber nach Gabe von Clofibrinsäure	S.53
III.4.B. Histologische Veränderungen nach alleiniger Gabe von Thioacetamid	S.53
III.4.C. Vorbehandlung mit Clofibrinsäure und einmalige Gabe von TAA	S.54
III.4.D. Alleinige Gabe von ANIT	S.55
III.4.E. Vorbehandlung mit Clofibrinsäure und Gabe von ANIT	S.59
IV. <u>DISKUSSION</u>	
IV.1. Zu den Untersuchungsergebnissen nach Gabe von TAA und Clofibrinsäure	S.64
IV.2. Zu den Untersuchungsergebnissen nach Gabe von ANIT und Clofibrinsäure	S.67
V. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	S.70
<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	S.72
LEBENS LAUF	S.84
DANKSAGUNGEN	S.85

VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN

ANIT	Alpha-naphthyl-iso-thiocyanat
AP	Alkalische Phosphatase
Bil	Bilirubin
CAT	Carnitin-Acyl-Transferase
Chol	Cholesterin
CPIB	Chlorophenoxy-iso-butyrat
DNP	2,4-Dinitrophenol
GDP	Glycerol-1-Phosphat-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
h	Stunde
HE	Hämatoxylin-Eosin
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
n	Zahl der Tiere pro Gruppe
N	Gesamtzahl der Tiere
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
p.o.	per os
RER	Rough Endoplasmatic Reticulum
RLG	Relatives Lebergewicht
s	Standardabweichung
SER	Smooth Endoplasmatic Reticulum
TAA	Thioacetamid
TG	Triglyzeride
VLDL	very low density lipoproteins
x	Mittelwert; Einzelwert

Die Zahlenangaben in Klammern () verweisen auf die Nummer der Literaturstelle im Literaturverzeichnis.

I. EINLEITUNG

I.1. HEPATOMEGALIE ALS WIRKUNG VON CLOFIBRAT

Seit etwa 20 Jahren ist eine Vergrößerung der Leber von Versuchstieren als Effekt von Clofibrat bekannt¹⁾ (9,36,97). Clofibrat galt als Medikament der Wahl bei Hyperlipoproteinämien vom Typ III nach FREDERICKSON, und in eingeschränktem Maße bei Typ II-IV. Es ist besonders effektiv bei der Senkung erhöhter Konzentrationen von endogen synthetisierten Triglyceriden, die der VLDL-Fraktion der Lipoproteine angehören (36, 49,55,107,108). In den letzten Jahren wurde Clofibrat in der klinischen Anwendung vielfach durch neu entwickelte Substanzen, die allerdings oft strukturell verwandt sind, ersetzt (25,31, 89,106).

Eine Vergrößerung von Rattenlebern als Wirkung von Clofibrat war anfangs umstritten. HESS et al. (36) erzielten nach 14-tägiger Vorbehandlung mit 0,25-0,5 % Clofibratanteil an der Nahrung eine 50 %ige Zunahme des Lebergewichts (9,70,97). Unklar ist, ob die Hepatomegalie auf eine Hypertrophie der einzelnen Hepatozyten und /oder auf eine Hyperplasie von Leberzellen zurückzuführen ist. CHHABRA et al. (16) fanden bei Versuchen mit hungernden Ratten, daß sich die Hepatomegalie auf Clofibrinsäure zurückführen läßt. Sie beobachteten nach Clofibratvorbehandlung auch unter Nahrungsmittelentzug eine Hepatomegalie. Heute besteht Einigkeit darüber, daß die durch CPIB induzierte Lebervergrößerung überwiegend auf eine Hypertrophie von Leberzellen zurückzuführen ist (3,9). Cytophotometrische und biochemische Methoden der DNA-Bestimmung bestätigen die Hypertrophie (19).

Anm.1): Handelsnamen: Atheroprone^R, Regelan^R, Atromid-S^R. Clofibrat ist der Ethyl-Ester von 2-(4-chlorphenoxy)-2-methylpropionic acid. Der wirksame Metabolit ist Clofibrinsäure, CPIB (Chlorophenoxy Isobutyrate), die auch im experimentellen Teil der Arbeit verwendet wurde (5,25,47).

Ihr alleiniger Einfluß bleibt zweifelhaft, da sich sowohl eine Zunahme der durchschnittlichen Zellmasse pro Kern, als auch eine Zunahme der Zahl der Zellkerne ergab, was mit einer Zunahme der zwei- und mehrkernigen Zellen, als auch mit einer Zunahme der Gesamtzahl der Zellen, also einer Hyperplasie erklärt werden kann.

Weiterhin ist ungeklärt, welche Zellorganellen im Einzelnen an der Entstehung der Hepatomegalie beteiligt sind (9,36). Elektronenoptisch findet sich eine Proliferation von microbodies. Diese werden u.a. von DE DUVE und BAUDHUIN (21) als cytoplasmatische Zellelemente beschrieben, deren Membranen über kurze Fortsätze mit dem glatten endoplasmatischen Retikulum (SER) verbunden sein sollen (36,62,97).

I.2. VERÄNDERUNGEN AN DEN PEROXYSOMEN DURCH CLOFIBRAT

"Microbodies" wurden zuerst im Jahre 1954 durch RHODIN beschrieben (21). Als ein besonderer Typ einer im Cytoplasma angesiedelten Zellorganelle, die von einer einzelnen Membran umgeben ist, fand man sie zuerst in Nierenzellen, später aber vor allem in Leberzellen. Existenz und Funktion blieben umstritten bis sich einige Aufgaben, der von Biochemikern nun "Peroxysomen" genannten Partikel, abzeichneten: im Wasserstoff-Peroxyd-Metabolismus als Träger eines Enzymsystems mit mehreren Oxydasen, welche Sauerstoff zu Wasserstoff-Peroxyd reduzieren und vor allem als Träger der Catalase, eines Enzyms mit der Fähigkeit, Wasserstoff-Peroxyd zu Wasser zu reduzieren (vgl. Review von MASTERS und HOLMES (62); 21,80,81).

Wie und aus welchen Strukturen entwickeln sich Peroxysomen? Eine Hypothese ist die Entwicklung aus dem SER heraus, so daß man auch von einer Verbindung zwischen diesen Zellorganellen sprechen kann (52,62). Heute stellt man sich unter microbodies rundliche Zellorganellen mit einer feinen granulären Matrix und umgeben von einer einzelnen Membran vor. Sie sind manchmal mit einem Kern versehen und zeigen die verschiedensten Formvarianten. Hier verspricht die Anwendung von Clofibrat weitere Klärung, da es eine Proliferation der Peroxysomen bewirkt (21).

Und zwar nicht nur eine zahlenmäßige Zunahme, sondern auch beachtliche Variationen in Größe und Form (22). KOLDE et al. (44) fanden haufenförmig zusammengedrückte Gruppen von microbodies, teilweise irregulär geformt und mit fingerähnlichen Fortsätzen versehen. Ein Kern fehlt dagegen meist (3,32).

1.3. CLOFIBRAT INDUZIERTER AKTIVITÄTSANSTIEG DER CATALASE

Übereinstimmend wird von der Zunahme einer feinen cytoplasmatischen Granulierung der Leberzelle der Ratte nach Clofibratvorbehandlung berichtet, was mit einer Zunahme des Gehalts an Catalase in Verbindung gebracht wird. Auch ohne direkte Korrelation zwischen Peroxysomen-Proliferation und Catalase-Aktivitätszunahme kann von einer engen Verbindung gesprochen werden (6,9). GOLDENBERG et al. (32) vermuten, daß die proliferierten Peroxysomen weniger Catalase pro Volumeneinheit enthalten, was jedoch bei ihrer insgesamt gestiegenen Anzahl und ihrem vermehrtem Volumen doch einem Anstiegs des Gesamtgehalts der Leber an Catalase entspricht. Zur weiteren Klärung transplantierten REDDY und SVOBODA (79) Ratten bestimmte Tumore, deren bekannter Effekt eine verminderte Catalase-Synthese ist. Nach Gabe von CPIB zeigt sich eine Zunahme der microbodies an Zahl und Größe und ein signifikanter Anstieg der Catalase-Aktivität (101).

Die Catalase gilt heute als Marker-Enzym der Peroxysomen (21,45,62,63). Anfangs war ihre lebensnotwendige Funktion umstritten, da es Menschen ohne Catalase geben sollte. Da sie keine Krankheitssymptome zeigen, wurde die Catalase als überflüssig angesehen. Später fand man, daß der wesentliche Unterschied zwischen acatalasämischen Menschen und anderen Personen nicht im vollständigen Fehlen dieses Enzyms liegt, sondern in einer unterschiedlich schnellen Abbaurate einer Mutante dieses Enzyms (62).

Die Funktion der Catalase liegt u.a. darin, eine Art Sicherheitsventil zu sein, wenn eine überschüssige Menge an Wasserstoff-Peroxyd akkumuliert wird, die anderweitig nicht verstoffwechselt werden kann (21). Aufgaben hat sie folglich im Abbau von H_2O_2 , im Äthanol-Methanol-Stoffwechsel und im Fettsäure-

metabolismus. Übereinstimmung herrscht darüber, daß in der Leber ein konstanter Aufbau von H_2O_2 stattfindet, und eine wesentliche Funktion der Catalase dessen Abbau ist, als ein Bestandteil des normalen Leber-Metabolismus mit Lokalisation in den Peroxysomen (63).

Allerdings findet sich ein beträchtlicher Teil der Catalase nicht in den Leber-Peroxysomen, sondern in den Leber-Mitochondrien. Nach der Behandlung mit CPIB fanden KRISHNAKANTHA et al. (45) einen etwa zweifachen Aktivitätsanstieg der in den Peroxysomen enthaltenen Catalase, im Gegensatz zu einem Abfall der mitochondrialen Catalase-Aktivität. Dem Catalase-Anstieg entspricht in gleichem Umfang der Anstieg in der Bildung des peroxysomalen Gesamtproteins, so daß die Aktivitätszunahme letztlich auf die numerische Zunahme der Peroxysomen zurückgeführt werden kann (32).

I.4. ZUNAHME AN CARNITIN-ACYL-TRANSFERASE (CAT)

Die sowohl in den Mitochondrien als auch in den Peroxysomen lokalisierte CAT ist ein weiteres Enzym, dessen Aktivität durch Clofibrat stimuliert wird (32,60).

Sie hat Funktionen im Metabolismus der Fett-Acyl-Gruppen. Allerdings ist unklar, ob der Aktivitätsanstieg nach CPIB auf eine verstärkte Synthese oder auf einen verlangsamten Abbau zurückzuführen ist (65,85). Ein mehr als ⁸zwanzigfacher Aktivitätsanstieg der CAT nach Clofibrat ist gesichert. Er bezieht sich jedoch im Wesentlichen auf den in den Mitochondrien enthaltenen Teil des Enzyms (22,42,43,61,73).

I.5. MÖGLICHE CLOFIBRAT-WIRKUNGEN IM LIPIDSTOFFWECHSEL

Bei der Untersuchung der durch Clofibrat induzierten Veränderungen an den Peroxysomen stand von Anfang an die Verbindung mit dem Lipidstoffwechsel im Vordergrund. Ein Zusammenhang zwischen Peroxysomenproliferation, Catalaseaktivitätszunahme und lipidsenkendem Effekt wird diskutiert. Dieser läßt sich jedoch nicht ohne weiteres herstellen, da das Ausmaß der sub-

zellulären Veränderungen, insbesondere der microtomy-Proliferation, und der hypolipämischen Wirksamkeit nicht übereinstimmen. Jedoch sollen bestimmte Polypeptide, die mit der Peroxysomenmembran verbunden sind, eine Rolle im Lipidmetabolismus spielen (vgl. SVOBODA und AZARNOFF (97); 3,80,82,84,108).

Weiterhin richtet sich das Interesse auf Wasserstoff Übertragende Substanzen und Coenzyme, wobei vor allem das NAD eine Zunahme zeigt. BERRY et al.(10) vermuten, daß der in den durch Clofibrateinfluß proliferierten Peroxysomen vermehrt produzierte Wasserstoff für die Oxydation von langkettigen Fettsäuren wichtiger ist, als der im Cytoplasma für die Oxydation in den Mitochondrien produzierte (77).

Man fand ein Kettenverkürzungssystem für lange Fettsäuren, das extramitochondrial in den Peroxysomen lokalisiert sein soll. Jedoch bleibt fraglich, ob die beobachtete gesteigerte Fettsäureoxydation in der Leber nach Clofibrat die Ursache des hypolipämischen Effektes ist (17,25, 47,58,105).

Weiterhin wird eine mögliche Beteiligung von Acyl-Transferasen, insbesondere von CAT, diskutiert (14,43,73).

LAZAROW und DE DUVE (50) sicherten die Existenz eines peroxysomalen "Fett-Acyl-CoA-oxidierenden Systems", dessen Aktivität durch Clofibrat verstärkt wird. Es ermöglicht die β -Oxydation der Fettsäuren auch in den Peroxysomen, und macht so den Mitochondrien ihre einzigartige Stellung im Fettsäurestoffwechsel teilweise streitig (51,63).

Von einem Einfluß der Peroxysomen auf den Metabolismus der Fettsäuren kann heute ausgegangen werden, auch wenn die Rolle der Mitochondrien hier nicht zu vernachlässigen ist.

I.6. CLOFIBRATWIRKUNGEN AN DEN MITOCHONDRIEN

Klinische leberbiopsische Befunde von HANEFELD et al. (35) korrelieren den lipidsenkenden Effekt einer Langzeitbehandlung mit CPIB mit einer vermehrten Anzahl von Mitochondrien in der Leber und insbesondere einer Hypertrophie ihrer inneren Membran. Ultrastrukturell-morphometrische Untersuchungen an Rattenlebern ergaben eine signifikante Verminderung der Anzahl der Mitochondrien nach Clofibratvorbehandlung. Hingegen änderte sich die totale mitochondriale Volumendichte nicht, was auf eine Vergrößerung des durchschnittlichen Mitochondriums hinweist (44).

LAKER und MAYES (47) fanden eine Zunahme der Zellatmung in der Leber und des O_2 -Verbrauchs nach Clofibrat, was sie auf die Hepatomegalie zurückführen. Der mitochondriale O_2 -Verbrauch nimmt jedoch ab, so daß von einer Einschränkung des mitochondrialen Energiestoffwechsels durch Clofibrat gesprochen werden kann.

CPIB greift in verschiedene Transportsysteme, die an der inneren Mitochondrien-Membran lokalisiert sind, ein. Aus in vitro-Studien von Energie-Produktion und -Verbrauch in den Mitochondrien ergaben sich Ähnlichkeiten zwischen Clofibrat und 2,4-Dinitrophenol(DNP), einem bekannten Entkoppler der oxydativen Phosphorylierung. Jedoch bleibt der genaue Ansatzpunkt von Clofibrat an der Atmungskette unklar (15,46,58).

Der mitochondriale Proteingehalt nimmt nach CPIB zu. Weiterhin findet man eine sechsfache Aktivitätssteigerung der mitochondrialen Glycerol-1-Phosphat-Dehydrogenase(GDP) (36,43,45,99).

Insgesamt ist die Bedeutung der durch die Clofibrinsäure an den Mitochondrien bewirkten Veränderungen für den Lipidmetabolismus weiter umstritten.

I.7. HORMONEINFLUSS UND CLOFIBRATWIRKUNG

Experimente mit männlichen und weiblichen Ratten zeigen die bekannten Clofibratwirkungen, microbody-Proliferation und Catalase-Aktivitätsanstieg, lediglich bei männlichen Tieren. Deshalb nahm man einen Einfluß von männlichen Geschlechtshormonen, vor allem von Testosteron, auf die CPIB-Wirkung an. Ähnliche Ergebnisse fanden OVOSODA, ADARLOFF und REDDY (88) für weitere Enzyme, z.B. CAT (65). Jedoch beobachteten REDDY und KUMAR (85) bei höheren Dosen verabreichter Substanz auch bei weiblichen Ratten eine Zunahme von microbodies, CAT- und Catalase-Aktivität, so daß sich nach zwei- und mehrfacher Menge Clofibrat kein Unterschied mehr zu den an männlichen Tieren gefundenen Ergebnissen feststellen läßt. Nebennierenrindenhormone zeigen keinen Einfluß auf die Clofibratwirkung (36). Dagegen verschwindet bei Abwesenheit des Schilddrüsenhormons Thyroxin der hypolipämische Effekt von Clofibrat. Die Thyroidektomie hat jedoch keinen Einfluß auf die microbody-Proliferation, wohingegen sie die Hepatomegalie verhindert. Der nach CPIB verstärkte O₂-Verbrauch in der Leber wird durch Thyroxin nicht beeinflusst, ebenso wie die verstärkte Fettsäureoxydation. Heute besteht Einigkeit darüber, daß das Thyroxin einen vermittelnden Einfluß auf den hypolipämischen Effekt und die mikrosomalen und peroxysomalen Enzymwirkungen von Clofibrat hat. Ein entscheidender Einfluß kommt ihm jedoch hierbei nicht zu; lediglich in einigen Teilschritten folgen CPIB und Thyroxin ähnlichen Stoffwechselwegen (37,58,59,73).

I.8. ARZNEIMITTELMETABOLISMUS UND CLOFIBRAT

Die Verkürzung der Phenobarbital-Schlafzeit nach Clofibrat führten BECKETT et al.(9) zuerst auf die Vergrößerung der Leber, als auf eine Stimulierung des mikrosomalen Drogenmetabolisierenden Systems zurück. Allerdings wird ein vom Alter der Ratten abhängiger Zuwachs des mikrosomalen Proteingehalts gefunden und ein Anstieg von Cytochrom P-450. Ein Einfluß von CPIB auf Drogen metabolisierende Enzyme des

SER und auf das mikrosomale Misch-funktionelle Oxydasen-System ist wahrscheinlich (37,56,71).

1.9. WEITERE CLOFIBRATWIRKUNGEN

Bei Untersuchungen an der perfundierten Rattenleber ergibt sich ein Insulin-ähnlicher Einfluß von Clofibrat auf die Erniedrigung der Glucosekonzentration im Perfusat (47).

GAMBLE (29) beobachtete eine Strukturähnlichkeit zwischen Clofibrat und Herbiziden aus der Gruppe der Aryloxy- und Phenoxysäuren und weiterhin Ähnlichkeiten in ihrem Metabolismus, wobei der NAD/NADH_2 -Quotient im Vordergrund steht, von dem der Grad der Aktivität vieler Enzyme abhängt.

Die gleiche Strukturähnlichkeit könnte allerdings auch Hinweise auf eine mögliche Tumorentstehung durch Clofibrat geben, da sich einige der in der Landwirtschaft verwendeten Phenoxysäuren als cancerogen herausgestellt haben (4).

Eine pharmakokinetische Untersuchung von BALWIN et al.(5) mit radioaktiv markiertem Clofibrat ergab keine Wirkung auf die Biotransformation in vivo; es zeigte sich eine Anreicherung von Clofibrinsäure in den Leber-Peroxisomen und -Mitochondrien.

1.10. ZUR HEPATOTOXIZITÄT VON THIOACETAMID(TAA)

Die Hepatotoxizität von TAA ist seit 1948 durch Untersuchungen von FITZHUGH und NELSON (27) bekannt. Seitdem es in den vierziger Jahren in den USA zuerst als Mittel der Schädlingsbekämpfung eingesetzt wurde, vor allem gegen die Erreger der sog. Orangen-Fäule, wurde schon früh vor möglichen toxischen Folgen dieser Behandlung gewarnt, da bekannt wurde, daß TAA durch die Schale der behandelten Früchte in das Fruchtfleisch einzudringen vermag, und folglich auch im Saft der so behandelten Früchte nachweisbar war (13).

TAA findet in der experimentellen Leberforschung Verwendung, da es, je nach Versuchsdauer und Dosierung, in der Leber Ne-

krosen, Cirrhosen und Carcinome zu erzeugen vermag (2,28,33, 91,92,93,94).

Die einmalige Gabe von höheren Dosen über 200 mg/kg KG erzeugt in der Leber schon nach 24 h Zellnekrosen, vor allem im Läppchenzentrum mit gleichmäßiger Verteilung (13). Nach 48 h nehmen diese Nekrosen ungefähr die Hälfte der Läppchen ein. Die noch erhalten gebliebenen Parenchymzellen weisen pyknotische Kerne auf; das Cytoplasma ist teils vakuolig geschwollen, und nimmt bei HE-Färbung eine mehr eosinophile Tönung an. Die aufgeblähten Kerne erscheinen strukturlos mit einem meist stark vergrößerten Nucleolus.

Die v. Kupfferschen Sternzellen bleiben dagegen unbeschädigt. Nach 72 h haben sich die Massennekrosen über weit mehr als die Hälfte des Läppchens ausgedehnt. Die Regeneration der Leberzellen hat begonnen; sie nimmt ihren Ausgang von den periportal Zonen. Etwa eine Woche nach Gabe einer einmaligen Dosis sind die histologisch sichtbaren Regenerationsvorgänge abgeschlossen (13,67,95).

Bei biochemischen Untersuchungen fanden MÜNZENMAIER et al.(67) 24 h nach einmaliger Gabe einer lebertoxischen Dosis von TAA eine geringe, wenn auch signifikante Transaminasenerhöhung. Nach 48 h sind histochemisch die Aktivitäten aller Enzyme in der Läppchenmitte vermindert. Die Serum-Transaminasen zeigen einen erheblichen Anstieg. 72 h nach Gabe einer einmaligen Dosis von TAA hat sich die Tendenz der Abnahme der histochemisch im Gewebe gemessenen Enzymaktivitäten fortgesetzt, wohingegen die Verschlussenzyme und Transaminasen im Serum weiter angestiegen sind.

TAA vermag die Aktivität der hepatischen misch-funktionellen Oxydase (Mikrosomen-Fraktion) herabzusetzen (39,83).

Bei der Untersuchung des Wirkungsmechanismus von TAA und seines Stoffwechsels ergeben sich Hinweise, daß der hepatotoxische Effekt durch einen Metaboliten ausgelöst werden könnte. Hierbei werden besonders die Wirkungen des Thioacetamid-S-Oxyd diskutiert (8). Nähere Untersuchungen durch HUNTER et al.(39) deuten darauf hin, daß dieser Metabolit durch das misch-funktionelle Oxydase-System aktiviert werden könnte.

Nach TAA-Behandlung findet sich eine microbody-Proliferation ähnlich der nach Clofibrat; die Zahl und die Größenvariation der microbodies haben zugenommen, allerdings nicht die nach CPIB beschriebene Zunahme der Matrixstreifung (97).

Nach Gabe von TAA werden Hypotrophie und Disorganisation des rauhen endoplasmatischen Retikulums beschrieben, insbesondere seiner Membranen (44). Dadurch wird die Proteinsynthese beeinträchtigt. Clofibrat entfaltet an dieser Struktur eine ähnliche Wirkung.

Die allgemein-toxische Wirksamkeit von TAA zeigt sich bei Versuchen mit einer einmaligen Gabe von 300-400 mg/kg p.o., wobei nach 48 h alle Tiere gestorben waren. Zu klären bleibt, inwieweit eine allgemeine Intoxikation, oder besondere Schädigungen, z.B. eine Nephrose, für den Eintritt des Todes der Tiere verantwortlich sind (13,95).

I.11. ZUR HEPATOTOXIZITÄT VON ANIT

Die akute Cholangiolitis als Effekt einer einmaligen Gabe von Alpha-naphthyl-iso-thiocyanat (ANIT) ist seit längerem bekannt (vgl. ELIAKIM et al. (23); 1,64). Die morphologischen Alterationen erscheinen innerhalb von 24 bis 48 h, berühren aber anfangs nur in geringem Umfang das eigentliche Leberparenchym. In den Portalfeldern zeigen sich um die Gallengänge herum und in ihrer Wand nach 24 h verschiedene Grade eines Ödems und einer akuten entzündlichen Reaktion. An den kleinen Gallengängen finden sich Nekrosen und Desquamation des Epithels. Ihr Lumen ist fast vollständig mit nekrotisierten Zellen, Schleim und Granulozyten gefüllt. Periportal finden sich gelapptkernige Leukocyten und Rundzellinfiltrate. Nahe den größeren Portalfeldern finden sich scharf begrenzte Leberzellnekrosen.

Nach 48 h beobachtet man vereinzelte Mitosen im Epithel der Gallengänge. Diese Reaktionen beschränken sich jedoch weitgehend auf die Portalfelder. Nach 72 h ist die entzündliche Reaktion nur noch gering ausgeprägt und das Gallengangsepi-

thel fast wiederhergestellt (23,53,66).

Nach 72 h werden viele Mitosen in den Hepatocyten nahe den Periportalfeldern beobachtet. Das Ödem ist nach 96 h fast verschwunden; Granulocyten, Histiocyten, Lipophagen und Fibroblasten werden in der Nähe größerer Gallengänge beobachtet. Außerdem findet sich nun eine ausgeprägte Proliferation von Gallengängen intralobulär.

Eine längere Gabe von ANIT über ein Jahr ergibt keine malignen Veränderungen. Nach der Initialchase einer akuten Cholangitis mit einer manchmal verbundenen fibrösen Obstruktion der interlobulären Gallengänge ergibt sich im weiteren Verlauf des Experiments eine komplette Rekanalisation. Von Anfang an proliferieren in zunehmenden Maße kleine intralobuläre Gallenkanälchen, die, nach Rekanalisation der Gallenverzweigung, nach einem Jahr fast die Hälfte der Leber mit Haufen von Gallengängen überziehen (vgl. UNGAR et al.(104)).

Die biochemischen Veränderungen im Serum sind nach 48 und 72 h am stärksten ausgeprägt. Dabei findet sich ein starker Anstieg des Bilirubins im Serum, auf bis das Vierzigfache der Kontrollwerte, und ein Anstieg der Serum-Transaminasen auf bis das Zehnfache der Ausgangswerte (7,53,66,76).

Der GOT-Wert im Leberparenchym zeigt einen entsprechenden Abfall, so daß der SGOT-Anstieg mit großer Wahrscheinlichkeit hepatischen Ursprungs ist. Allerdings bleibt er in seinem quantitativen Ausmaß fragwürdig, da den hohen Serum-Transaminasen kein vergleichbar großer Leberparenchymschaden gegenüber steht. Offensichtlich ist die Gallenwegsobstruktion in einem großen Ausmaß an dieser Transaminasenerhöhung beteiligt (vgl. MORAN et al.(66)).

Bemerkenswert finden LEINFELDER et al.(53) das zeitliche Auseinanderfallen der Gipfel der beobachteten morphologischen und biochemischen Veränderungen, die nicht ohne weiteres korreliert werden können.

Von der Beeinträchtigung einiger mikrosomaler Enzyme, die am Drogenmetabolismus in der Leber beteiligt sind, durch ANIT wird berichtet. Dabei zeigt sich eine deutliche Verlängerung der Hexobarbital-Schlafzeit, deren Mechanismus allerdings

nicht geklärt ist (87,88).

Weitere Beobachtungen sind eine erhöhte proteinbiosynthese und eine starke Erhöhung der Gesamtgallensäuren nach ANIT-Behandlung, was im Sinne einer pathologisch anabolen Reaktion der Leberzellen gedeutet wird (34,54,57,86).

Bei der ANIT-Cholestase handelt es sich um ein gut reproduzierbares Modell einer experimentellen Leberschädigung, dessen Anwendung Erkenntnisse über den Mechanismus von Leberschädigungen zu versprechen scheint.

I.12. SCHÄDIGUNGSMODELLE DER LEBER UND CLOFIBRAT

Ein Schutz der Leber vor toxischen Schäden wird mit einer Vielzahl von Substanzen und Maßnahmen versucht. Hierzu werden die unterschiedlichsten Schädigungsmodelle und Substanzen verwendet (26,93,96,103).

Bei der Untersuchung der lipidsenkenden Wirkung von Clofibrat ergibt sich eine vermehrte Aktivitätsrate des peroxysomalen β -Oxydations-Systems bezüglich der Kettenverlängerung von Fettsäuren. Von daher liegt die Untersuchung des peroxysomalen Systems alleine, unter Verwendung von Inhibitoren der mitochondrialen Fettsäureoxydation nahe. Eine Gabe von Clofibrat verhindert die toxischen Wirkungen von Pent-4-enoat und Hypoglycin, weiterhin auch die nach diesen Substanzen normalerweise auftretende Hypoglykämie und Hypothermie (12,38).

Die durch Orotsäure hervorgerufene Fettleber kann durch die gleichzeitige Gabe von Clofibrat verhindert werden. Darüberhinaus kann Clofibrat auch eine durch Diät oder Orotsäure induzierte Fettleber wieder rückgängig machen. Dabei zeigen sich an ultrastrukturellen Veränderungen in der Leber eine Zunahme der Zahl der Peroxysomen und eine Vergrößerung eines Teils des endoplasmatischen Retikulums (vgl. ELWOOD et al.(24); NOVIKOFF et al. (68,69)).

Bei der Untersuchung der Galaktosamin-Hepatitis, welche eine ähnliche entzündliche Reaktion wie die virale Hepatitis zeigt, fanden ROZE et al.(90) keinen Hinweis auf eine gesteigerte

toxische Reaktion nach Clofibrat. Allerdings zeigte die Clofibratbehandlung auch keinen Schutz vor der Galaktosaminwirkung, sondern es ergibt sich nur eine Addition der sonst einzeln erhaltenen Effekte.

CORTESSE et al. (18) verhinderten durch hohe Dosen Clofibrat bei Ratten mit künstlich angelegtem portocavalen Shunt die sonst gefundene Encephalopathie. Allerdings bleibt unklar, ob dieser protektive Effekt von Clofibrat über zentrale Wirkungen oder über Eingriffe in den Leberstoffwechsel bewirkt wird (78).

Bei Untersuchungen mit Alkohol-intoxikierten Ratten beobachteten LAMBOEUF und DE SAINT BLANQUAT (48) eine Reduzierung des freiwilligen Alkoholkonsums nach einer einwöchigen Gabe von Clofibrat. Weiterhin steigt die Aktivität der Alkohol metabolisierenden Enzyme, Alkohol Dehydrogenase und Aldehyd-Dehydrogenase, nach Clofibrat an, so daß eine Steigerung des Alkohol-Stoffwechsels vorliegt.

Bei der Verwendung von Cerium Chlorid (CeCl_3 , ein seltenes Erdmetall) als leberschädigender Substanz, die bei Ratten sowohl zur Lipidakkumulation als auch zu Lebernekrosen führt, erwies sich in Untersuchungen von TUCHWEBER und SALAS (101) die Gabe von CPIS als wirksam in der Reduzierung einer 50 %igen Mortalität auf 0 %, welche nach CeCl_3 alleine auftritt. Beim Vergleich mit weiteren Lipidsenkern zeigen sich die mit der Fähigkeit zur stärksten Peroxysomenproliferation auch als am wirksamsten im Schutz vor den toxischen CeCl_3 -Wirkungen. Die Wirkungsweise dieses Schutzmechanismus ist jedoch unklar, so daß weitere Untersuchungen mit anderen leberschädigenden Substanzen hier zusätzliche Klärung versprechen.

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, den Einfluß einer Vorbehandlung mit Clofibrinsäure auf die Rattenleber nach Gabe von Thioacetamid und ANIT zu untersuchen.

II. MATERIAL UND METHODEN

II.1. TIERMATERIAL UND TIERHALTUNG

Männliche Wistar-Ratten (SPF) mit einem Anfangsgewicht zwischen 70 - 90 g, geliefert vom Zentralinstitut für Versuchstiere, Hannover. Die Untersuchungen wurden mit ca. 200 Ratten unternommen. Nach einer Eingewöhnungszeit von wenigen Tagen wurden die Tiere in den Versuch aufgenommen. Jeweils 3 bzw. 5 Ratten waren in einem Käfig untergebracht. Im Tierlabor lag ein kontrollierter zwölfstündiger Hell/Dunkel-Rhythmus vor. Altromin und Wasser standen ad libitum zur Verfügung. Das Körpergewicht wurde alle drei Tage, der Futterverbrauch am Ende des Versuchs registriert.

II.2. SUBSTANZEN

CLOFIBRINSÄURE (CPIB): Chlorophenoxy Isobutyrat (2-(4-chlorophenoxy)-2-methylpropionat) (97 %);
gelöst in PBS bei pH 7-8.

THIOACETAMID (TAA): gelöst in aqua bidest.

ANIT: Alpha-naphthyl-iso-thiocyanat; suspendiert in Erdnußöl.

Alle Substanzen wurden von der Fa. E. Merck, Darmstadt geliefert.

ALTROMIN: Standarddiät für Nager; geliefert von der Altromin GmbH, Lage.

II.3. VERSUCHSANORDNUNG UND MATERIALGEWINNUNG

Es wurden zwei Versuchsreihen von je dreizehn Tagen Dauer durchgeführt. Dazu wurden die Ratten in vier Gruppen eingeteilt:

Die erste Gruppe, bestehend aus 25 Tieren, aufgeteilt zu je 5 Ratten pro Käfig, erhielt am 8. Versuchstag 400 mg TAA/kg KG, bzw. beim zweiten Versuchsdurchgang 150 mg ANIT/kg KG, jeweils über eine Schlundsonde verabreicht.

Die zweite Gruppe, bestehend aus 15 Ratten, aufgeteilt zu je

drei Ratten pro Käfig, erhielt jeden Morgen zwischen 8 und 9 Uhr 300 mg CPIB/kg KG über eine Schlundsonde.

Die dritte Gruppe, bestehend aus 15 Tieren, aufgeteilt zu je drei Ratten pro Käfig, wurde als Kontrollgruppe nicht behandelt.

Die vierte Gruppe, bestehend aus 25 Tieren, aufgeteilt zu je 5 Ratten pro Käfig, erhielt jeden Morgen zwischen 8 und 9 Uhr 300 mg CPIB/kg KG, und am 8. Versuchstag 400 mg TAA/kg KG, bzw. 150mg ANIT/kg KG, jeweils über eine Schlundsonde verabreicht.

Vom 9. Versuchstag an, d.h. 24,48,72,96 und 120 h nach Gabe der jeweiligen Substanz, wurden aus jeder der vier Gruppen je 5, bzw. 3 Ratten zwischen 9 und 11 Uhr morgens getötet.

Die Gabe von Clofibrinsäure wurde bis zum letzten Behandlungstag fortgesetzt.

Im Ätherrausch wurde den Ratten durch einen T-förmigen Schnitt das Abdomen eröffnet. Die V.cava abd. wurde mit einer Kanüle Nr.1 punktiert und das Blut in heparinisierte Einmalspritzen (Monovetten, Fa. Sarstedt) aufgezogen.

Danach wurden die Ratten durch Durchtrennung des Gefäß-/Nervenstrangs kaudal des Zwerchfells getötet.

Die Leber wurde herauspräpariert, in physiologischer Kochsalzlösung abgespült, gewogen und in der dreifachen Menge Formalin (10 %) fixiert.

Das Blut wurde in einer Zentrifuge (Hettich Rotixa/A) bei 2000 U/min. zentrifugiert, abgeernt und zur späteren blutchemischen Bestimmung eingefroren.

Untersuchungsparameter waren das Körpergewicht (KG) in Gramm (g) und das Relative Lebergewicht (RLG), d.h. g Leber pro 100 g KG.

Abb.1: Versuchsplanung TAA

Tag	Gruppe 1:	Gruppe 2:	Gruppe 3:	Gruppe 4:
	400 mg TAA/kg am 8.Tag 25 Tiere	täglich 300 mg CPiB/ kg 15 Tiere	unbehandelte Kontroll- gruppe 15 Tiere	täglich 300 mg CPiB/kg und am 8.Tag 400 mg TAA/kg 25 Tiere
1		300 mg CPiB/kg		300 mg CPiB/kg
2		300 mg CPiB/kg		300 mg CPiB/kg
3		300 mg CPiB/kg		300 mg CPiB/kg
4		300 mg CPiB/kg		300 mg CPiB/kg
5		300 mg CPiB/kg		300 mg CPiB/kg
6		300 mg CPiB/kg		300 mg CPiB/kg
7		300 mg CPiB/kg		300 mg CPiB/kg
8	400 mg TAA/kg	300 mg CPiB/kg		300 mg CPiB/kg und 400 mg TAA/kg
9	5 Tiere tten	3 Tiere tten	3 Tiere tten	5 Tiere tten
10	5 Tiere tten	3 Tiere tten	3 Tiere tten	5 Tiere tten
11	5 Tiere tten	3 Tiere tten	3 Tiere tten	5 Tiere tten
12	5 Tiere tten	3 Tiere tten	3 Tiere tten	5 Tiere tten
13	5 Tiere tten	3 Tiere tten	3 Tiere tten	5 Tiere tten

Versuchsplanung ANIT wie TAA, lediglich 150 mg ANIT/kg statt 400 mg TAA/kg.

II.4. CHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN IM SERUM

Parameter waren:

ALKALISCHE PHOSPHATASE (AP): Orthophosphorsäure-monoester-
phosphorhydrolase; E.C. 3.1.3.1.
in U/l

GESAMT-BILIRUBIN (Bil): in mg/dl

TRIGLYZERIDE (TG): in mg/dl

CHOLESTERIN (Chol): in mg/dl

SERUM-GLUTAMAT-OXALACETAT-TRANSFERASE (SGOT): Aspartat-Amino-
Transferase; E.C. 2.6.1.1.
in U/l

SERUM-GLUTAMAT-PYRUVAT-TRANSFERASE (SGPT): Alanin-Amino-
Transferase; E.C. 2.6.1.2.
in U/l

Die blutchemischen Untersuchungen wurden im Zentrallabor
des Klinikum Charlottenburg mit einer automatisierten Methode,
dem Technicon SMAC (Sequentieller Microcomputergesteuerter
Vielfach Analysator) II C System, vorgenommen.

II.5. HISTOLOGIE UND STATISTIK

Die in Formalin fixierten Gewebsstücke wurden zuerst in
einer Histokinette, Typ E 7326, Fa. Jung, Heidelberg, be-
handelt, dann in Paraplast eingebettet und mit einem Schlit-
tenmikrotom geschnitten. Die Dicke der Schnitte betrug 2-4
Mikrometer. Anschließend erfolgte eine HE-Färbung.

Mittelwerte und Standardabweichung wurden aus den jeweils
angegebenen Kollektiven der Größe "N" berechnet. Die Werte
wurden dann mit Hilfe des Wilcoxon-Tests für beliebig ver-
teilte Stichproben auf signifikante Unterschiede überprüft.
Die Berechnungen wurden auf einer "Wang 700" im Klinikum
Steglitz durchgeführt.

III. ERGEBNISSE

III.1. GEWICHT UND RELATIVES LEBERGEWICHT

III.1.A. Verlauf bei der Gabe von TAA (Abb. und Tab. 2 und 3)

Das Körpergewicht der mit TAA behandelten Tiere sinkt bis 72 h nach Gabe der Substanz ab. Dann beginnt ein Wiederanstieg, der jedoch das KG der unbehandelten Kontrolltiere und der nur mit CPIB behandelten Tiere nicht mehr zu erreichen vermag. Zwischen dem KG der unbehandelten Kontrolltiere und dem der nur mit CPIB behandelten Tiere sind keine signifikanten Unterschiede festzustellen. Ebensowenig wie bei den beiden mit TAA behandelten Gruppen.

Das Relative Lebergewicht der nur mit TAA behandelten Ratten zeigt lediglich geringe Schwankungen um den Normalbereich der unbehandelten Kontrolltiere. Dagegen liegen die Werte der mit CPIB und mit TAA plus Clofibrinsäure behandelten Tiere um durchschnittlich 1g höher. Hierbei erweist sich die gemeinsame Gabe von beiden Substanzen als wirksamer.

III.1.B. Verlauf bei der Gabe von ANIT (Abb. und Tab. 4 und 5)

ANIT führt lediglich zu einem geringen, vorübergehenden Absinken des KG der behandelten Ratten. Jedoch findet sich auch hier die Tendenz des KG-Anstiegs der unbehandelten und mit CPIB behandelten Tiere einerseits, wohingegen die mit ANIT behandelten Gruppen andererseits ein um durchschnittlich 20g niedrigeres KG aufweisen.

Nach 24 h führt ANIT zu einer geringfügigen Erniedrigung des Relativen Lebergewichts. Sonst zeigen sowohl die alleine mit Clofibrinsäure behandelten Tiere als auch die mit ANIT behandelten eine deutliche Steigerung des Relativen Lebergewichts, wobei allerdings konstante, signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsarten nicht festzustellen sind.

Tab.2

Körpergewicht (in g) nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und sieben-
tägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

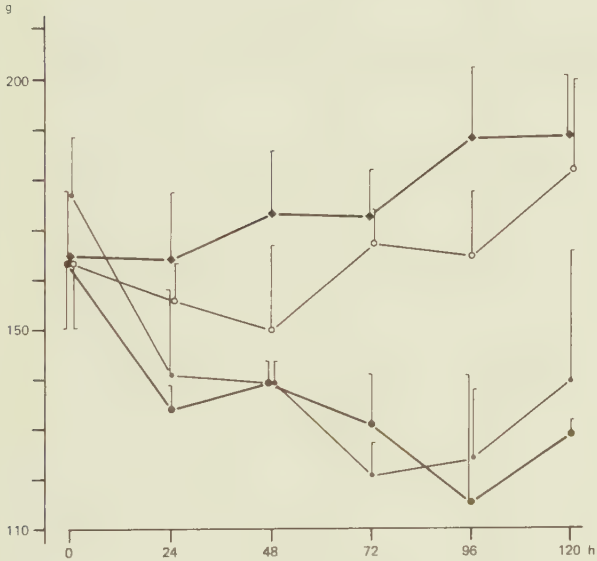
Zahl der Tiere N=216

		Behandlung mit			
		unbehandelt	CPIB	TAA	TAA und CPIB
0	x+s	164,4±13,9	163,8±12,4	177,5±10,6	163,8±12,4
	n	12	25	25	25
24 h	x+s	164,4±13,9	156,0±7,4	140,8±17,4	134,0±4,7
	n	12	8	5	5
48 h	x+s	173,3±12,4	149,6±18,9	139,4±4,4	139,5±4,3
	n	12	6	5	4
72 h	x+s	172,7±9,4	167,1±6,5	120,6±6,1	131,0±10,0
	n	10	9	3	3
96 h	x+s	188,4±14,2	164,4±13,4	123,6±14,3	115,0±25,4
	n	10	9	3	2
120 h	x+s	188,7±12,8	182,3±18,0	139,6±26,2	129,0±2,8
	n	10	6	5	2

Abb.2

Körpergewicht(in g) nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und sieben-
tägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=216



Legende: unbehandelt ◆

CPIB ○

TAA •

CPIB + TAA ●

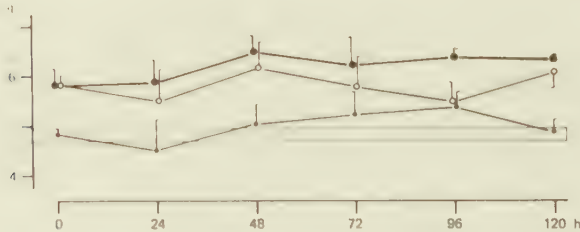
Tab. und Abb.3

RLG (in g/100g) nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=150

Behandlung mit

		CPIB	TAA	TAA und CPIB
0	$\bar{x} \pm s$ n	5,84 $\pm$ 0,34 25	4,82 $\pm$ 0,12 25	5,84 $\pm$ 0,34 25
24 h	$\bar{x} \pm s$ n	5,5 $\pm$ 0,6 8	4,5 $\pm$ 0,61 5	5,89 $\pm$ 0,46 5
48 h	$\bar{x} \pm s$ n	6,18 $\pm$ 0,5 6	5,03 $\pm$ 0,41 5	6,51 $\pm$ 0,33 4
72 h	$\bar{x} \pm s$ n	5,83 $\pm$ 0,53 9	5,25 $\pm$ 0,54 3	6,25 $\pm$ 0,53 3
96 h	$\bar{x} \pm s$ n	5,51 $\pm$ 0,31 9	5,38 $\pm$ 0,26 3	6,4 $\pm$ 0,12 2
120 h	$\bar{x} \pm s$ n	6,19 $\pm$ 0,29 6	4,94 $\pm$ 0,16 5	6,33 $\pm$ 0,05 2



Legende:

CPIB ○

TAA •

CPIB + TAA ●

Tab.4:

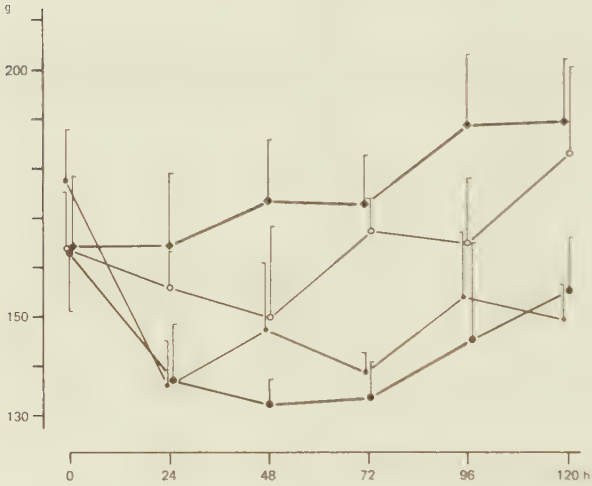
Körpergewicht(in g) nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und sieben-
tägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=228

		Behandlung mit			
		unbehan- delt	CPIB	ANIT	ANIT und CPIB
0	x+s n	164,4±13,9 12	163,8±12,4 25	177,5±10,6 25	163,8±12,4 25
24 h	x+s n	164,4±13,9 12	156,0±7,4 8	136,0±9,6 5	137,0±11,3 5
48 h	x+s n	173,3±12,4 12	149,6±18,9 6	147,2±13,7 5	132,4±5,1 5
72 h	x+s n	172,7±9,4 10	167,1±6,5 9	137,6±4,9 5	133,7±7,0 4
96 h	x+s n	188,4±14,2 10	164,4±13,4 9	153,6±13,1 5	145,0±19,4 5
120 h	x+s n	188,7±12,8 10	182,3±18,0 6	149,0±7,1 5	155,0±5,6 5

Abb.4:

Körpergewicht (in g) nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.



Legende:

unbehandelt: ◆

CPIB: ○

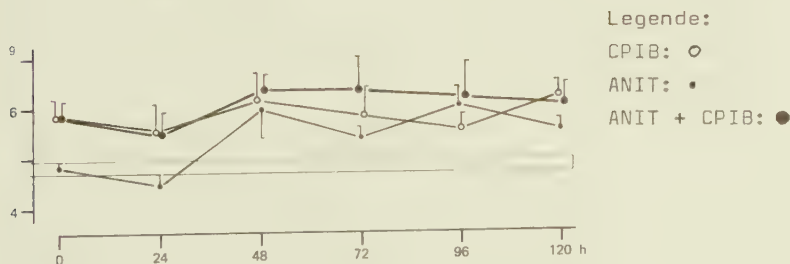
ANIT: ·

CPIB + ANIT: ●

Tab. und Abb.5: Relatives Lebergewicht (in g/100g) nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=162

		Behandlung mit		
		CPIB	ANIT	ANIT und CPIB
0	$\bar{x} \pm s$	5,84 $\pm$ 0,34	4,82 $\pm$ 0,12	5,84 $\pm$ 0,34
	n	25	25	25
24 h	$\bar{x} \pm s$	5,5 $\pm$ 0,6	4,46 $\pm$ 0,23	5,46 $\pm$ 0,46
	n	8	5	5
48 h	$\bar{x} \pm s$	6,18 $\pm$ 0,5	5,96 $\pm$ 0,52	6,38 $\pm$ 0,3
	n	6	5	5
72 h	$\bar{x} \pm s$	5,83 $\pm$ 0,53	5,4 $\pm$ 0,21	6,37 $\pm$ 0,69
	n	9	5	4
96 h	$\bar{x} \pm s$	5,51 $\pm$ 0,31	6,02 $\pm$ 0,37	6,18 $\pm$ 0,71
	n	9	5	5
120 h	$\bar{x} \pm s$	6,19 $\pm$ 0,29	5,52 $\pm$ 0,24	6,08 $\pm$ 0,34
	n	6	5	5



III.2. FUTTERVERBRAUCH UND ÜBERLEBENSRATE

III.2.A. Futterverbrauch (Abb. und Tab. 6 und 7)

Der Futterverbrauch wurde jeweils am Ende des Versuchs gemessen, um zusätzliche Hinweise auf die Auswirkungen der lebertoxischen Substanzen zu erhalten.

Dabei führt die Behandlung mit TAA zu einem deutlichen Unterschied gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren. Der Futterverbrauch der unbehandelten und alleine mit Clofibrinsäure behandelten Kontrolltiere unterscheidet sich nicht voneinander. Bei den mit TAA behandelten Ratten ist eine deutliche Einschränkung der Futteraufnahme zu beobachten.

ANIT führt erst nach 72 h zu einer unterschiedlichen Entwicklung bei den mit der Substanz behandelten Tieren, wobei jedoch lediglich ein geringes Absinken des Futterverbrauchs festzustellen ist.

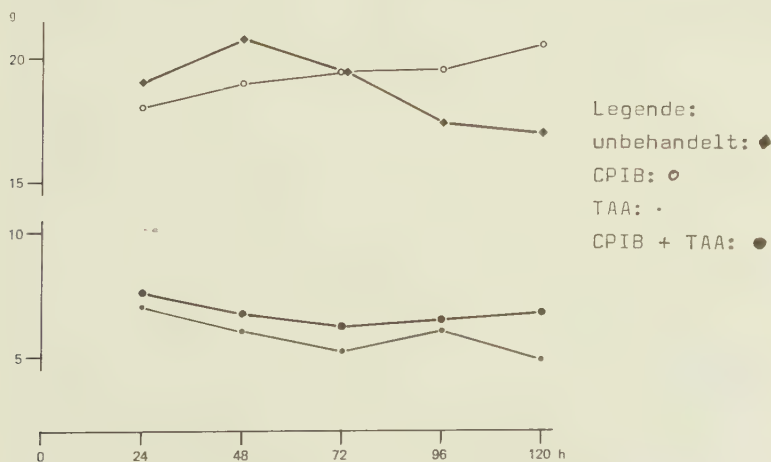
III.2.B. Überlebensrate

Ein über zufällige, seltene Ereignisse hinausgehendes Sterben (z.B. versehentliche Gabe der Substanzen mit der Schlundsonde in die Trachea und nicht in den Magen) der Ratten konnte nur bei TAA beobachtet werden. Sowohl bei der alleinigen Gabe von TAA als auch bei der Gabe von TAA plus CPIB starben 48 h nach Verabreichung des Giftes jeweils etwa 20 % der Ratten vorzeitig. Hierbei waren keine Unterschiede zwischen der ausschließlichen Gabe von TAA und der Gabe von TAA plus Clofibrinsäure zu beobachten. Dieses Ergebnis konnte in einem Nachversuch bestätigt werden.

Tab. und Abb.6: Futterverbrauch(in g/Ratte) nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=75

		Behandlung mit			
		unbe- handelt	CPIB	TAA	CPIB und TAA
24 h	x	19	18	7	7,6
	n	3	3	5	5
48 h	x	20,8	19	6	6,7
	n	3	3	5	5
72 h	x	19,5	19,5	5,2	6,2
	n	3	3	5	5
96 h	x	19,6	17,4	6	-
	n	3	3	5	-
120 h	x	20,6	17	4,9	6,8
	n	3	3	5	5

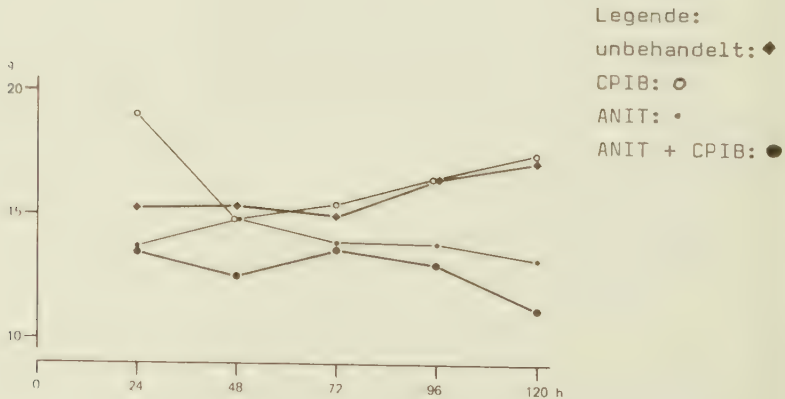


N.B.: ab 96 h leider Kurve "CPIB" und "unbehandelt" vertauscht

Tab. und Abb.7: Futterverbrauch(in g/Ratte) nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=85

		Behandlung mit			
		unbe- handelt	CPIB	ANIT	ANIT und CPIB
24 h	x	15,2	19	13,7	13,5
	n	3	5	5	5
48 h	x	15,3	14,8	14,6	12,5
	n	3	5	5	5
72 h	x	14,9	15,4	13,9	13,6
	n	3	5	5	5
96 h	x	16,4	-	13,8	13,0
	n	3	-	5	5
120 h	x	17,1	17,4	13,2	11,2
	n	3	5	5	5



III.3. BLUTCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN

III.3.A. Siebentägige Vorbehandlung mit Clofibrinsäure und einmalige Gabe von Thioacetamid

Die AP zeigt den stärksten Aktivitätsanstieg 24 und 48 h nach Gabe von TAA. Nach 48 h liegen die Werte der mit CPIB behandelten Tiere darunter, jedoch ist der Unterschied nicht signifikant. Zu allen anderen Zeitpunkten haben die beiden Kurven einen ähnlichen Verlauf. Die Aktivität der AP der nur mit Clofibrinsäure behandelten Ratten liegt im Normalbereich der unbehandelten Tiere (Abb. und Tab. 8).

Das Gesamt-Bilirubin der mit TAA behandelten Ratten zeigt nach 24 h einen deutlichen Anstieg. 72 h nach Gabe der Substanz beginnt es abzufallen, bleibt aber bis zum Ende des Versuchs deutlich erhöht gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren. Ein signifikanter Unterschied zwischen der alleinigen Gabe von TAA und der Vorbehandlung mit CPIB plus TAA ist nach 72 h zu beobachten ($0,142p < 0,05$). (Abb. und Tab. 9)

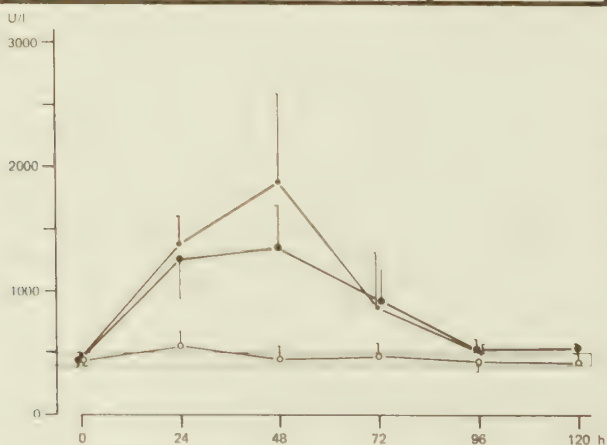
Der Cholesterinwert für die mit Clofibrinsäure behandelten Tiere schwankt um den Normalbereich der unbehandelten Kontrolltiere. Die Werte für die mit TAA behandelten Ratten zeigen einen zweigipfligen Verlauf mit einem ersten Höhepunkt bei 24 h und einem zweiten bei 96 h. Ähnliche, allerdings nicht so ausgeprägte Schwankungen, sind bei den mit Clofibrinsäure plus TAA behandelten Ratten zu beobachten. Die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. (Abb. und Tab. 10)

Die Triglyzerid-Konzentration im Serum verläuft bei den mit Clofibrinsäure behandelten Tieren am oberen Rand des Normalbereichs. Bei den mit TAA behandelten Ratten schwanken sie zwischen sehr niedrigen Werten nach 48 h, unter dem der unbehandelten Kontrolltiere, und sehr hohen nach 72 h. Einen ähnlichen Verlauf, wenn auch im Ausmaß der Schwankungen abgeschwächt, zeigen die mit CPIB plus TAA behandelten Ratten. Insgesamt sind diese TG-Werte jedoch gegenüber den Kontrolltieren deutlich erhöht. (Abb. und Tab. 11)

Die Aktivität der SGOT läßt einen hohen Gipfel für die mit TAA

Tab. und Abb.8: AP (in U/l) im Serum nach Gabe von 400 mg TAA/
kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPiB/kg KG.
Zahl der Tiere N=142

		Behandlung mit		
		CPiB	TAA	CPiB und TAA
0	$\bar{x} \pm s$ n	474,6 $\pm$ 43,9 25	465,2 $\pm$ 57,3 25	474,6 $\pm$ 43,9 25
24 h	$\bar{x} \pm s$ n	548,3 $\pm$ 122,7 8	1388,0 $\pm$ 112,5 5	1262,2 $\pm$ 314,9 4
48 h	$\bar{x} \pm s$ n	464,0 $\pm$ 105,5 6	1870,0 $\pm$ 703,8 5	1361,2 $\pm$ 319,2 4
72 h	$\bar{x} \pm s$ n	473,8 $\pm$ 102,4 9	865,3 $\pm$ 407,0 3	913,0 $\pm$ 238,2 3
96 h	$\bar{x} \pm s$ n	454,1 $\pm$ 75,9 8	506,0 $\pm$ 47,9 3	513,5 $\pm$ 36,1 2
120 h	$\bar{x} \pm s$ n	433,8 $\pm$ 76,4 5	- -	517,0 $\pm$ 11,3 2

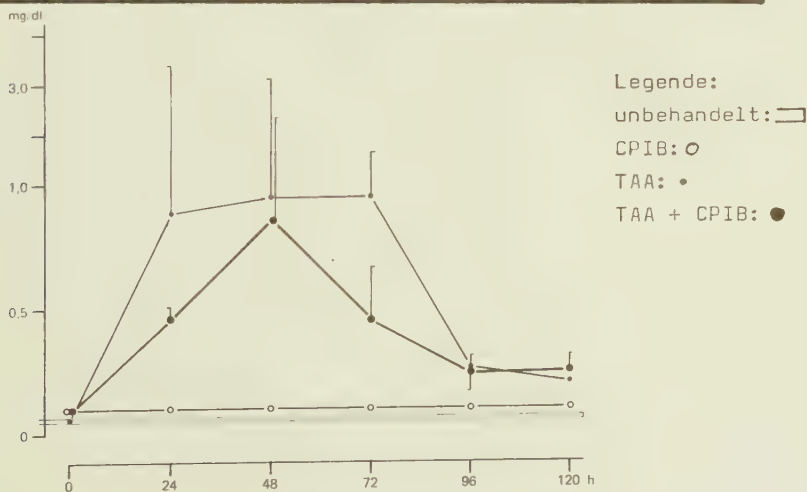


Tab. und Abb.9: Gesamt-Bilirubin (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=126

Behandlung mit

		CPIB	TAA	TAA und CPIB
0	x $\pm$ s n	0,1 $\pm$ 0 25	0,058 $\pm$ 0,01 25	0,1 $\pm$ 0 25
24 h	x $\pm$ s n	0,1 $\pm$ 0 7	0,88 $\pm$ 0,59 5	0,46 $\pm$ 0,05 3
48 h	x $\pm$ s n	0,1 $\pm$ 0 4	0,9 $\pm$ 0,47 5	0,86 $\pm$ 0,4 3
72 h	x $\pm$ s n	0,1 $\pm$ 0 5	0,9 $\pm$ 0,17 3	0,45 $\pm$ 0,21 2
96 h	x $\pm$ s n	0,1 $\pm$ 0 4	0,26 $\pm$ 0,05 3	0,25 $\pm$ 0,07 2
120 h	x $\pm$ s n	0,1 $\pm$ 0 2	0,2 $\pm$ 0 1	0,25 $\pm$ 0,07 2



Tab.10:

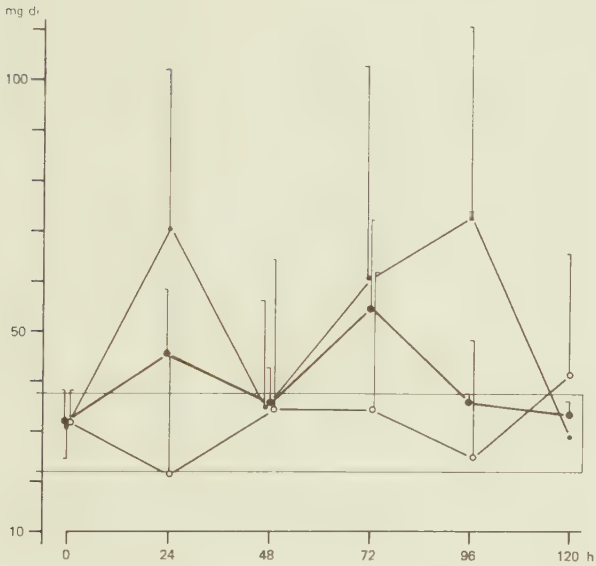
Cholesterin (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=136

		Behandlung mit		
		CPIB	TAA	TAA und CPIB
0	$\bar{x} \pm s$ n	31,8 $\pm$ 6,4 25	30,7 $\pm$ 7,7 25	31,8 $\pm$ 6,4 25
24 h	$\bar{x} \pm s$ n	21,5 $\pm$ 24,5 9	70,4 $\pm$ 31,7 5	40,6 $\pm$ 12,0 5
48 h	$\bar{x} \pm s$ n	32,1 $\pm$ 30,5 6	35,2 $\pm$ 20,9 5	30,6 $\pm$ 6,1 3
72 h	$\bar{x} \pm s$ n	34,1 $\pm$ 27,3 5	60,6 $\pm$ 40,2 3	50,5 $\pm$ 17,6 2
96 h	$\bar{x} \pm s$ n	24,7 $\pm$ 22,5 6	73,0 $\pm$ 39,0 3	36,0 $\pm$ 1,4 2
120 h	$\bar{x} \pm s$ n	41,1 $\pm$ 24,9 4	29,0 $\pm$ 0 1	33,5 $\pm$ 2,1 2

Abb.10:

Cholesterin (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.



Legende:

unbehandelt: □

CPIB: ○

TAA: ●

CPIB + TAA: ●

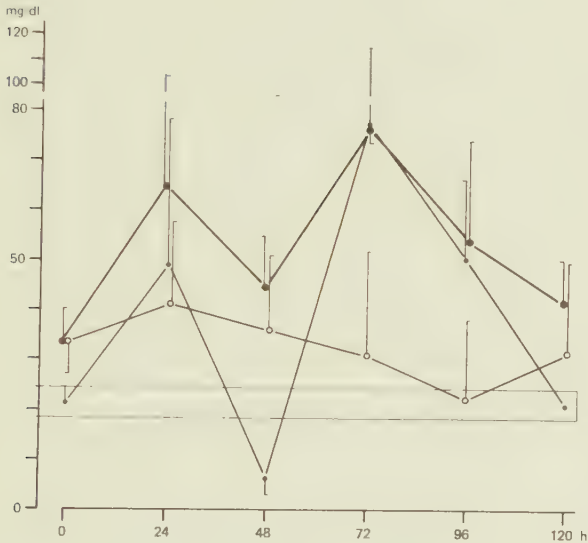
Tab.11:

Triglyzeride im Serum (in mg/dl) nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.
Zahl der Tiere N=145

		Behandlung mit		
		CPIB	TAA	TAA und CPIB
0	$\bar{x} \pm s$ n	33,2 $\pm$ 7,1 25	21,1 $\pm$ 3,0 25	33,2 $\pm$ 7,1 25
24 h	$\bar{x} \pm s$ n	41,0 $\pm$ 16,8 8	49,2 $\pm$ 29,1 5	64,6 $\pm$ 39,3 5
48 h	$\bar{x} \pm s$ n	36,0 $\pm$ 14,8 6	6,2 $\pm$ 2,7 5	44,3 $\pm$ 10,5 3
72 h	$\bar{x} \pm s$ n	31,2 $\pm$ 23,3 9	77,6 $\pm$ 38,6 3	77,3 $\pm$ 4,5 3
96 h	$\bar{x} \pm s$ n	22,0 $\pm$ 16,0 9	50,5 $\pm$ 16,0 3	54,5 $\pm$ 20,5 2
120 h	$\bar{x} \pm s$ n	36,1 $\pm$ 19,4 6	21,0 $\pm$ 0 1	42,0 $\pm$ 8,4 2

Abb.11:

Triglyzeride (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.



Legende:

unbehandelt: $\square$

CPIB: $\circ$

TAA: $\triangle$

CPIB + TAA: $\bullet$

behandelten Ratten nach 24 h beobachten. Die Differenz zur Clofibrinsäurevorbehandlung ist jedoch nicht signifikant. Nach 96 h sind die Werte wieder in den Normalbereich zurückgekehrt. Die ausschließliche Behandlung mit Clofibrinsäure führt zu keiner Erhöhung der Serum-Transaminasen. (Abb. und Tab. 12) In einem Nachversuch mit einem kleinen Kollektiv von Tieren wurden die Gipfelpunkte der SGOT-Aktivität -"peaks"- überprüft. Der peak verschob sich hierbei lediglich zwischen die 24 und 48 h -Werte auf 36 h nach Gabe des TAA, wobei sich jedoch das Gesamtbild des dargestellten Verlaufs nicht änderte.

Der Aktivitätsgipfel der SGPT für die beiden mit TAA behandelten Gruppen liegt ebenfalls bei 24 h. Hier ist jedoch nach Vorbehandlung mit Clofibrinsäure und Gabe von TAA ein signifikanter Unterschied ($2p < 0,05$) zur ausschließlichen Gabe von TAA zu beobachten, die zu einer weniger starken Erhöhung der SGPT führt. 72 h nach Gabe von TAA sind die Werte wieder in den Kontrollbereich der unbehandelten Tiere zurückgekehrt. (Abb. und Tab. 13)

III.3.B. Blutchemische Untersuchungen nach einmaliger Gabe von ANIT und siebentägiger Vorbehandlung mit Clofibrinsäure

Nach einem kontinuierlichen Anstieg ist die Aktivität der AP der mit ANIT behandelten Ratten nach 48 h am höchsten. 72 h nach Gabe der Substanz ist sie wieder in den Normalbereich zurückgekehrt. Die Werte der mit ANIT plus CPIB behandelten Tiere liegen über denen der nur mit ANIT behandelten, ohne daß der Unterschied signifikant ist. (Abb. und Tab. 14)

ANIT bewirkt eine starke Erhöhung des Bilirubins nach 48 h. Danach folgt ein kontinuierlicher Abfall, der jedoch bis 120 h nach Gabe der Substanz zu stets signifikant oberhalb des Kontrollbereichs liegenden Werten führt. Die Vorbehandlung mit CPIB führt dabei zu keinen Unterschieden gegenüber der ausschließlichen Gabe von ANIT. (Abb. und Tab. 15)

ANIT führt zu einer deutlichen Erhöhung des Cholesterins im Serum, mit einem Gipfel 72 h nach Gabe der Substanz. Zu diesem

Tab.12:

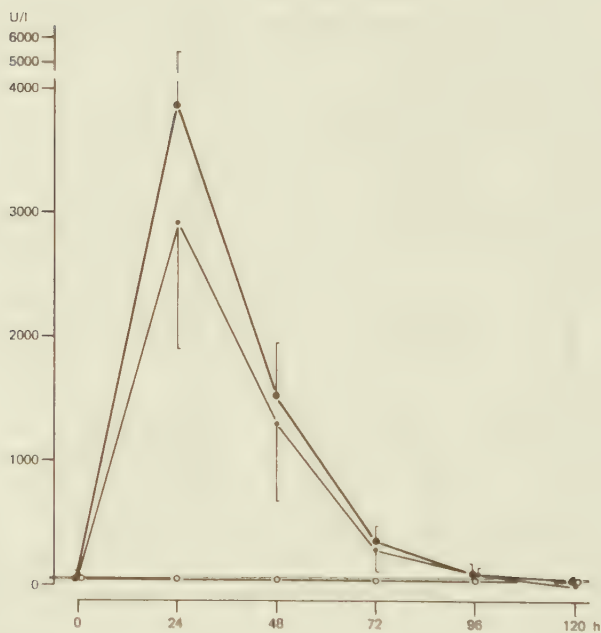
SGOZ (in U/l) nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=142

		Behandlung mit		
		CPIB	TAA	CPIB und TAA
0	$\bar{x} \pm s$ n	40,9 $\pm$ 1,5 25	45,2 $\pm$ 4,1 25	40,9 $\pm$ 1,5 25
24 h	$\bar{x} \pm s$ n	42,7 $\pm$ 4,5 7	2930,4 $\pm$ 1032,6 5	3854,4 $\pm$ 1604,2 5
48 h	$\bar{x} \pm s$ n	40,7 $\pm$ 3,5 6	1279,3 $\pm$ 619,3 5	1526,8 $\pm$ 427,1 4
72 h	$\bar{x} \pm s$ n	41,7 $\pm$ 2,9 6	286,0 $\pm$ 172,5 3	356,7 $\pm$ 101,1 3
96 h	$\bar{x} \pm s$ n	38,6 $\pm$ 5,9 9	107,2 $\pm$ 21,2 3	114,4 $\pm$ 58,6 2
120 h	$\bar{x} \pm s$ n	41,1 $\pm$ 4,0 6	10,1 $\pm$ 0 1	58,4 $\pm$ 7,5 2

Abb.12:

SGOI (in U/l) nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.



Legende:

unbehandelt: □

TAA: ●

CPIB: ○

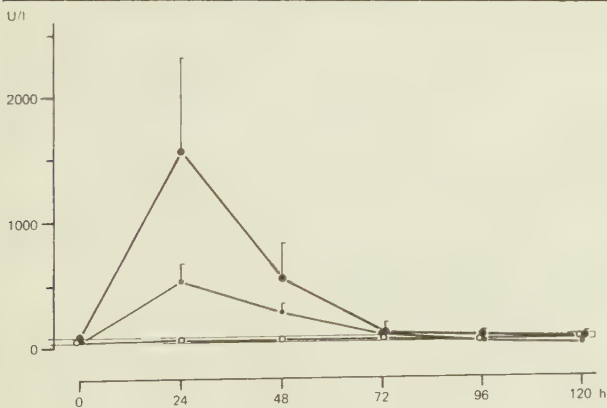
CPIB + TAA: ●

Tab. und Abb.13: SGPT (in U/l) nach Gabe von 400 mg TAA/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=144

Behandlung mit

		CPIB	TAA	CPIB und TAA
0	$\bar{x} \pm s$	35,5 $\pm$ 2,9	42,7 $\pm$ 12,0	35,5 $\pm$ 2,9
	n	25	25	25
24 h	$\bar{x} \pm s$	39,7 $\pm$ 8,0	532,4 $\pm$ 147,2	1576,5 $\pm$ 783,0
	n	7	5	4
48 h	$\bar{x} \pm s$	35,5 $\pm$ 8,1	278,2 $\pm$ 40,3	566,5 $\pm$ 217,1
	n	6	5	4
72 h	$\bar{x} \pm s$	35,1 $\pm$ 3,4	96,3 $\pm$ 44,2	144,6 $\pm$ 71,8
	n	9	3	3
96 h	$\bar{x} \pm s$	31,4 $\pm$ 7,2	31,0 $\pm$ 12,1	43,9 $\pm$ 9,8
	n	9	3	2
120 h	$\bar{x} \pm s$	35,8 $\pm$ 7,3	10,0 $\pm$ 0	52,5 $\pm$ 26,9
	n	6	1	2



Legende:

unbehandelt: □

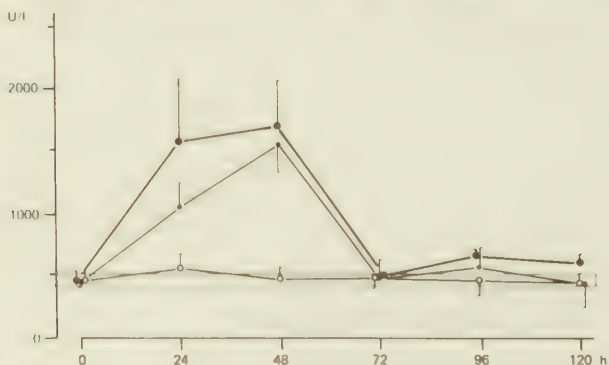
CPIB: ○

TAA: •

CPIB + TAA: ●

Tab. und Abb.14: AP (in U/l) im Serum nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG. Zahl der Tiere N=157

		Behandlung mit		
		CPIB	ANIT	CPIB und ANIT
0	x+s	476,6±43,9	465,2±57,3	476,6±43,9
	n	25	25	25
24 h	x+s	548,3±122,7	1047,2±182,9	1570,6±504,1
	n	8	5	5
48 h	x+s	464,0±105,5	1553,2±181,4	1667,4±375,4
	n	6	5	5
72 h	x+s	473,8±102,4	462,5±152,0	475,7±32,8
	n	9	4	4
96 h	x+s	454,1±75,9	553,8±140,9	648,6±42,1
	n	8	5	5
120 h	x+s	433,8±76,4	423,0±147,3	589,0±70,6
	n	5	4	4



Legende:
 unbehandelt: □
 CPIB: ○
 ANIT: ●
 CPIB + ANIT: ●

Tab.15:

Gesamt-Bilirubin (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

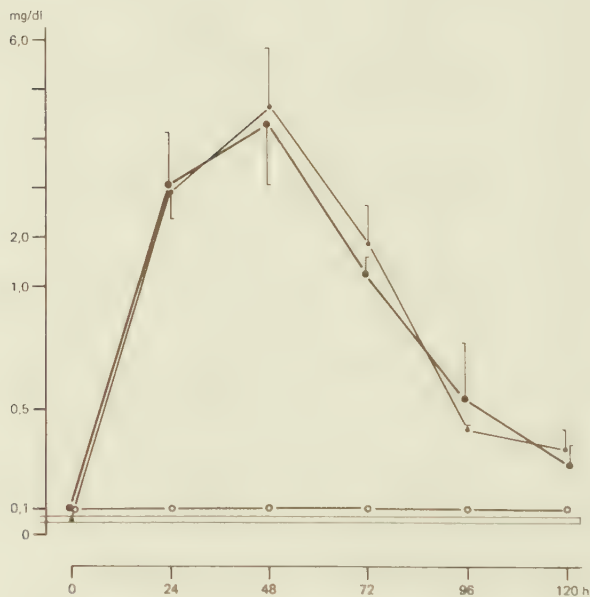
Zahl der Tiere N=146

Behandlung mit

		CPIB	ANIT	CPIB und ANIT
0	$\bar{x} \pm s$ n	$0,1 \pm 0$ 25	$0,058 \pm 0,01$ 25	$0,1 \pm 0$ 25
24 h	$\bar{x} \pm s$ n	$0,1 \pm 0$ 7	$2,92 \pm 0,49$ 5	$3,04 \pm 1,17$ 5
48 h	$\bar{x} \pm s$ n	$0,1 \pm 0$ 4	$4,62 \pm 1,2$ 5	$4,28 \pm 1,23$ 5
72 h	$\bar{x} \pm s$ n	$0,1 \pm 0$ 5	$1,88 \pm 0,87$ 5	$1,25 \pm 0,31$ 4
96 h	$\bar{x} \pm s$ n	$0,1 \pm 0$ 4	$0,42 \pm 0,04$ 5	$0,52 \pm 0,25$ 5
120 h	$\bar{x} \pm s$ n	$0,1 \pm 0$ 2	$0,34 \pm 0,08$ 5	$0,28 \pm 0,08$ 5

Abb.15:

Gesamt-Bilirubin (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 150 mg ANIT /kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.



Legende:

unbehandelt: □

CPIB: ○

ANIT: ●

CPIB + ANIT: ●

Zeitpunkt ist die Vorbehandlung mit Clofibrinsäure signifikant unterschiedlich ($2p < 0,05$) in der Verhinderung des Cholesterin-Anstiegs. Bis zum Ende des Versuchs zeigen die mit ANIT behandelten Tiere signifikant erhöhte Werte gegenüber den Kontrollwerten der unbehandelten Ratten. Die Gabe von Clofibrinsäure führt lediglich zu geringen Schwankungen der Cholesterin-Konzentration um den Normalbereich und bewirkt keine Senkung der Konzentration im Serum. (Abb. und Tab. 16)

Die Gabe von Clofibrinsäure führt zu einem Anstieg der Konzentration der Triglyzeride im Serum. Ähnliche Wirkung hat die Gabe von ANIT, wobei die Tiere mit Clofibrinsäure plus ANIT die stärksten Schwankungen in der Konzentration im Serum zeigen. (Abb. und Tab. 17)

48 h nach Gabe von ANIT ist die Aktivität der Transaminasen im Serum am stärksten angestiegen. Schon nach 24 h bewirkt ANIT einen Anstieg sowohl der SGOT als auch der SGPT, wobei jedoch die gleichzeitige Gabe von Clofibrinsäure zu signifikant höheren Werten führt ($2p < 0,05$). Das Niveau der Aktivität der Serum-Transaminasen liegt niedriger als nach der Gabe von Thioacetamid. 72 h nach Gabe von ANIT sind die Transaminasewerte in den Normalbereich der unbehandelten Kontrolltiere zurückgekehrt. (Abb. und Tab. 18 und 19)

Tab.16:

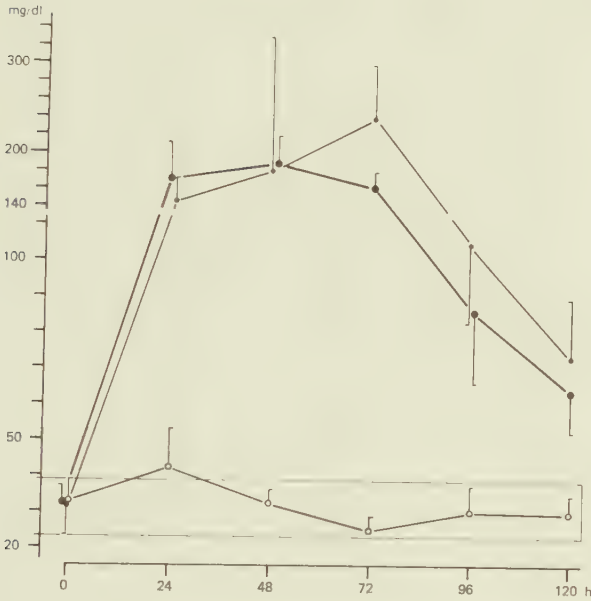
Cholesterin (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=160

		Behandlung mit		
		CPIB	ANIT	CPIB und ANIT
0	x+s	31,8±6,4	30,7±7,7	31,8±6,4
	n	25	25	25
24 h	x+s	42,3±10,6	145,4±27,4	172,6±40,2
	n	8	5	5
48 h	x+s	31,6±4,3	180,6±46,7	187,3±30,6
	n	6	5	3
72 h	x+s	24,6±3,8	238,2±51,3	162,5±16,6
	n	9	5	4
96 h	x+s	30,6±6,1	105,4±22,0	86,0±19,8
	n	9	5	5
120 h	x+s	30,0±4,4	73,0±16,8	63,8±11,1
	n	6	5	5

Abb.16:

Cholesterin (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.



Legende:

unbehandelt: □

CPIB: ○

ANIT: ●

CPIB + ANIT: ●

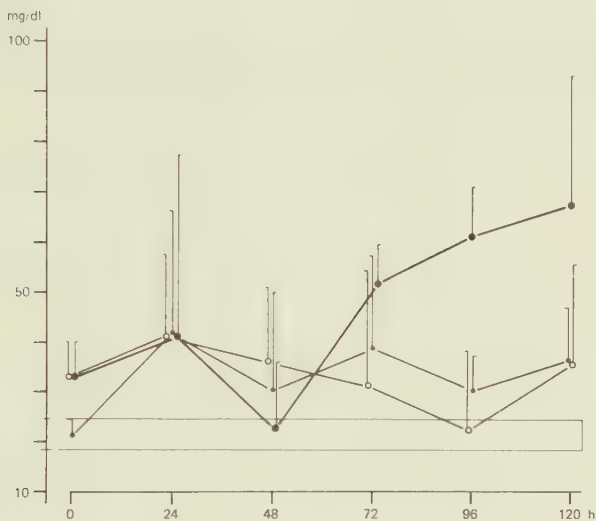
Tab.17:

Triglyzeride (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.
Zahl der Tiere N=159

		Behandlung mit		
		CPIB	ANIT	CPIB und ANIT
0	$\bar{x} \pm s$ n	33,2 $\pm$ 7,1 25	21,1 $\pm$ 3,0 25	33,2 $\pm$ 7,1 25
24 h	$\bar{x} \pm s$ n	41,0 $\pm$ 16,8 8	41,6 $\pm$ 25,5 5	41,0 $\pm$ 36,4 3
48 h	$\bar{x} \pm s$ n	36,0 $\pm$ 14,8 6	30,2 $\pm$ 19,4 5	22,7 $\pm$ 13,1 4
72 h	$\bar{x} \pm s$ n	31,2 $\pm$ 23,3 9	38,4 $\pm$ 18,9 5	51,7 $\pm$ 7,8 4
96 h	$\bar{x} \pm s$ n	22,0 $\pm$ 16,0 9	30,0 $\pm$ 6,9 5	61,2 $\pm$ 10,2 5
120 h	$\bar{x} \pm s$ n	36,1 $\pm$ 19,4 6	36,8 $\pm$ 10,5 5	67,4 $\pm$ 25,7 5

Abb.17:

Triglyzeride (in mg/dl) im Serum nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.



Legende:

unbehandelt:

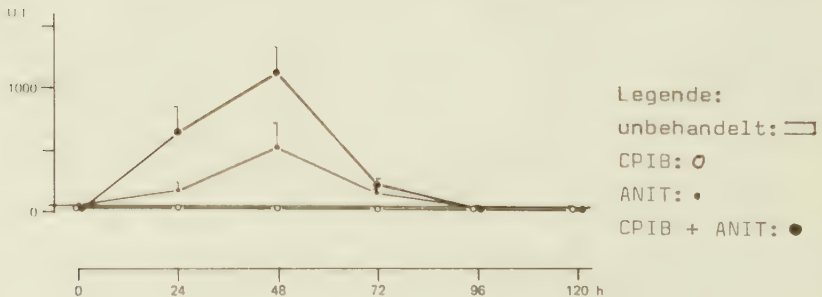
CPIB:

ANIT: •

CPIB + ANIT:

Tab. und Abb.18: SGOT (in U/l) nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.
Zahl der Tiere N=157

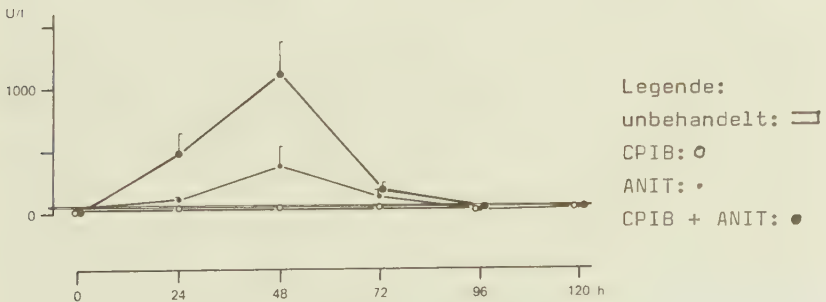
		Behandlung mit		
		CPIB	ANIT	CPIB und ANIT
0	$\bar{x} \pm s$ n	40,9 $\pm$ 1,5 25	45,2 $\pm$ 4,1 25	40,9 $\pm$ 1,5 25
24 h	$\bar{x} \pm s$ n	42,7 $\pm$ 4,5 7	186,6 $\pm$ 57,3 5	660,0 $\pm$ 189,6 5
48 h	$\bar{x} \pm s$ n	40,7 $\pm$ 3,5 6	522,8 $\pm$ 191,8 5	1126,8 $\pm$ 219,1 5
72 h	$\bar{x} \pm s$ n	41,7 $\pm$ 2,9 6	162,5 $\pm$ 36,0 4	232,9 $\pm$ 36,5 4
96 h	$\bar{x} \pm s$ n	38,6 $\pm$ 5,9 9	65,7 $\pm$ 10,7 5	58,8 $\pm$ 21,4 5
120 h	$\bar{x} \pm s$ n	41,4 $\pm$ 4,0 6	41,6 $\pm$ 8,0 5	44,6 $\pm$ 10,3 5



Tab. und Abb.19: SGPT (in U/l) nach Gabe von 150 mg ANIT/kg KG und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg KG.

Zahl der Tiere N=161

		Behandlung mit		
		CPIB	ANIT	CPIB und ANIT
0	$\bar{x} \pm s$	35,5 $\pm$ 2,9	42,7 $\pm$ 12,0	35,5 $\pm$ 2,9
	n	25	25	25
24 h	$\bar{x} \pm s$	39,7 $\pm$ 8,0	118,4 $\pm$ 29,0	486,2 $\pm$ 154,2
	n	7	5	5
48 h	$\bar{x} \pm s$	35,5 $\pm$ 8,1	386,4 $\pm$ 145,4	1119,8 $\pm$ 263,2
	n	6	5	5
72 h	$\bar{x} \pm s$	35,1 $\pm$ 3,4	136,6 $\pm$ 51,6	206,2 $\pm$ 15,3
	n	9	5	4
96 h	$\bar{x} \pm s$	31,4 $\pm$ 7,2	45,6 $\pm$ 6,9	54,2 $\pm$ 9,0
	n	9	5	5
120 h	$\bar{x} \pm s$	35,8 $\pm$ 7,3	37,0 $\pm$ 6,2	43,0 $\pm$ 9,5
	n	6	5	5



III.4. HISTOLOGIE II

III.4.A. LEBENS- UND VERÄNDERUNGEN AN DER LEBER NACH GABE VON CLOFIBRINSÄURE

Die histologische Untersuchung erfolgt an Leberschnitten nach 8 bis 13 - tägiger Gabe von 300 mg CPIB/kg KG. Anfangs ist eine Hypertrophie der Hepatocyten lichtmikroskopisch bei der angewandten Technik fraglich. Es finden sich auffallend viele Mitosen, jedoch kann ohne weitere Untersuchungen nicht von einem signifikanten Unterschied zu unbehandelten Tieren gesprochen werden.

Im weiteren Verlauf zeigt sich eine Vergrößerung der Hepatocyten, bedingt durch eine Zunahme des Cytoplasmas, welches insgesamt aufgelockert erscheint. Die Portalfelder sind weiterhin nicht verbreitert. Die Zahl der Mitosen schwankt; insgesamt kann jedoch von einer Zunahme im Vergleich zu unbehandelten Tieren gesprochen werden.

Die Lichtmikroskopischen Veränderungen nach Clofibrinsäure sind zusammenfassend nur als geringfügig zu bezeichnen. Nekrosen oder entzündliche Veränderungen sind nicht zu beobachten. Auffallend sind jedoch die Hypertrophie der Hepatocyten und die vermehrte mitotische Aktivität.

III.4.B. HISTOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN NACH ALLEINIGER GABE VON TAA

24 h nach einer einmaligen Gabe von 400 mg TAA/kg KG zeigt sich histologisch eine massive Koagulationsnekrose im läppchenzentral gelegenen Parenchym der Leber. Etwa ein Drittel des Läppchens ist nekrotisch verändert. Die Kerne zeigen eine Karyolyse. Am Randbezirk erkennt man Hepatocyten mit degenerierenden Zellkernen im Sinne einer Nekrobiose. Periportal gelegene Sinus sind erweitert. Man sieht eine zellige Reaktion bei einigen v.Kupfferschen Sternzellen.

Nach 48 h geht die Ausdehnung der Nekrosen zurück. Die Zellen in den Randbezirken der Nekrosen zeigen eine hydropische Degeneration in gürtelförmiger, teilweise konfluierender, Anordnung. Die Leberzellen zeigen Zeichen der Karyolyse, sie sind

wabig bis vakuolär aufgelockert mit häufig pyknotisch geschwollenen Kernen. Die Nukleoli sind vergrößert und nehmen ein Viertel bis ein Drittel des Kerns ein. Die rundzellige Infiltration der nekrotischen Bezirke beginnt; die Proliferation der Sternzellen hat im Vergleich zu 24 h zugenommen.

72 h nach Gabe von TAA sind kaum mehr Nekrosen sichtbar. Die rundzellige Reaktion überwiegt; man sieht eine erhebliche Sternzellenproliferation.

Nach 96 h ist die Nekrose weitgehend verschwunden. Einzelne hydropische Zellen finden sich immer noch im Läppchenzentrum. Eine Aktivierung der Sternzellen, vorwiegend in den läppchenzentralen Bezirken, ist zu erkennen.

Nach 120 h ist keine Nekrose mehr sichtbar; auch eine Sternzellenaktivierung ist kaum mehr zu erkennen. Weiterhin finden sich keine Anzeichen einer groben Verfettung.

TAA bewirkt nach einmaliger Gabe an der Leber eine massive Reaktion in Form einer Koagulationsnekrose mit einem Höhepunkt zwischen 24 und 48 h, bei dem ungefähr die Hälfte des Leberparenchyms nekrotisch verändert ist. Die Regeneration ist, nach einer erheblichen Sternzellenaktivierung, nach 96 h abgeschlossen.

III.4.C. VORBEHANDLUNG MIT CLOFIBRINSÄURE UND EINMALIGE GABE VON TAA

Nach achttägiger Vorbehandlung mit 300 mg CP18/kg und 24 h nach einmaliger Gabe von 400 mg TAA/kg zeigen sich im Leberparenchym viele Nekrosen. Sie sind in der Form von sektorförmigen Koagulationsnekrosen angeordnet, die straßenförmig von einer Zentralvene zu anderen Zentralvenen ziehen. Die Hepatocyten sind teilweise hypertrophiert und zeigen eine feine Granulation des Cytoplasmas. Eine geringe Sternzellenaktivierung ist sichtbar.

Nach 48 h ist das erhebliche Ausmaß der Nekrosen gleich geblieben. Man findet die für einmalige Gabe von TAA typischen Veränderungen: zentrale Nekrosen und nekrotische Randzonen. Die Nekrosegebiete ziehen sich konfluierend durch das Paren-

chym. Die Hepatocyten zeigen weiterhin Anzeichen der Hypertrophie. Die Nukleoli sind in der für TAA typischen Weise vergrößert.

72 h nach Gabe von TAA sind Nekrosen zwar noch vorhanden, aber schon in Resorption begriffen. Die Nukleoli der Hepatocyten sind weiterhin vergrößert. Die schon vorher sichtbare Sternzellenreaktion ist weiterhin vorhanden. Fetteinlagerung ist nicht erkennbar; wenige Mitosen sind sichtbar.

Nach 96 h sind die Nekrosen weiter zurückgegangen, konfluieren jedoch straßenförmig in der oben beschriebenen Weise.

Nach 120 h ist die Nekrose verschwunden. Einige Nukleolen sind vergrößert.

Beim Vergleich der Schnittserien mit und ohne Clofibrinsäurevorbehandlung kann histologisch kein wesentlicher Unterschied festgestellt werden. Die Art und Anordnung der Nekrosen ist beide Male typisch für die nach einmaliger Gabe von TAA beschriebene Weise (8,13,95).

Daher läßt sich nach der lichtmikroskopischen Untersuchung weder eine Verstärkung, noch eine Verminderung der hepatotoxischen TAA-Wirkung nachweisen.

III.4.D. ALLEINIGE GABE VON ANIT

Die histologische Untersuchung der Leberschnitte 24 h Gabe von 150 mg ANIT/kg KG zeigt eine deutliche Verbreiterung der Portalfelder verbunden mit einem massiven Ödem. Im Sinne einer entzündlichen Veränderung sind die Portalfelder zellig infiltriert mit Leukocyten und Rundzellen. Das Lumen der Cholangiolen ist teils verschlossen, teils mit einem körnigen, eosinophilen Exsudat angefüllt. Das Epithel ist geschwollen und polymorph. Selten beobachtet man eosinophile Einzelzellnekrosen. Insgesamt wirkt das Cytoplasma der Hepatocyten relativ dicht und eosinophil. Gallezyylinder und Gallepigment sind nicht zu beobachten. Vereinzelt finden sich intralobulär gelegene Sprossungen von Ductuli. Die v.Kupfferschen Sternzellen erscheinen aktiviert (Abb. 20 und 21).

Nach 48 h ist eine Zunahme des Ödems und der Entzündungszeichen zu beobachten. Die Lumina der Gallekapillaren sind zugeschwol-

len durch das periportale Ödem und eine Schwellung des Gang-epithels. Es zeigen sich Veränderungen im Sinne einer Cholangiolitis mit Destruktion und Schwellung des Gangepithels. Vereinzelt sind Mitosen im Gallengangsepithel sichtbar. Man erkennt vermehrt Cholangiolen, die sich teils sprossenartig aus den Portalfeldern zu entwickeln scheinen.

Intermediär erscheint das Cytoplasma der Hepatocyten aufgelockert, und es findet sich eine unscharf begrenzte vakuolige Umwandlung. Man sieht vereinzelt Zelluntergänge und eosinophile Einzelzellnekrosen. Mitosen sind in allen Phasen zu sehen; das Ausmaß ist größer als in der normalen Leber. Intralobulär fallen mehrere Gallengangsproliferate auf; viele Gallenkapillaren sind mitten im Läppchen gesproßt (Abb. 22 und 23).

Nach 72 h ist der Höhepunkt der entzündlichen Reaktion überschritten. Das Ödem ist etwas weniger geworden, und die zellige Infiltration der Portalfelder ist zurückgegangen. Die Lumina der größeren Gallengänge sind nun weiter als bei normalen Tieren. Im Parenchym proliferieren weiterhin kleine Gallengänge. Die Sprossungen sind von Kapillarneubildungen begleitet. Es liegt eine auffällige Neubildung von Kapillaren intralobulär vor. Daneben ist eine geringfügige, diffuse feintropfige Verfettung des Parenchyms erkennbar. Man beobachtet ein buntes Zellbild mit Kernpymorphie und verdichtetem, eosinophilem Cytoplasma. In den periportal gelegenen Hepatocyten sind sehr viele Mitosen sichtbar.

Nach 96 h ist die portale Entzündung weiter abgeklungen. Alle portalen Veränderungen sind rückläufig. Das Ödem hat sich fast völlig zurückgebildet; das entzündliche Exsudat ist verschwunden. Die Lumina der größeren Gallengänge sind erweitert. In den Lumina findet sich kein pathologischer Inhalt mehr. Im Parenchym erkennt man weiterhin Gallengangssprossen. Entzündungszeichen sind nicht vorhanden. Das Cytoplasma der Hepatocyten erscheint wabig aufgelockert; vereinzelt sieht man eosinophile Einzelzellnekrosen. Mitosen sind kaum noch zu erkennen.

120 h nach ANIT-Gabe hat sich das histologische Bild bis auf einige weiterhin vorhandene intralobuläre Sprossungen von kleinen Gallengängen normalisiert.



Abb.20: Akute Cholangiolitis 24 h nach Gabe von 150 mg ANIT/kg. Man erkennt eine Verbreiterung des Portalfeldes und ein massives Ödem; weiterhin zahlreiche Mitosen im Leberparenchym. (HE-Färbung)



Abb.21: Entzündliche Infiltration des Portalfeldes mit Rundzellen und Leukozyten 24 h nach Gabe von 150 mg ANIT/kg. (HE-Färbung)



Abb.22: Zunahme der Entzündungszeichen und Schwellung der Zellen 48 h nach Gabe von 150 mg ANIZ/kg. Eine deutliche Proliferation der Ductuli ist zu erkennen. (HE-Färbung)

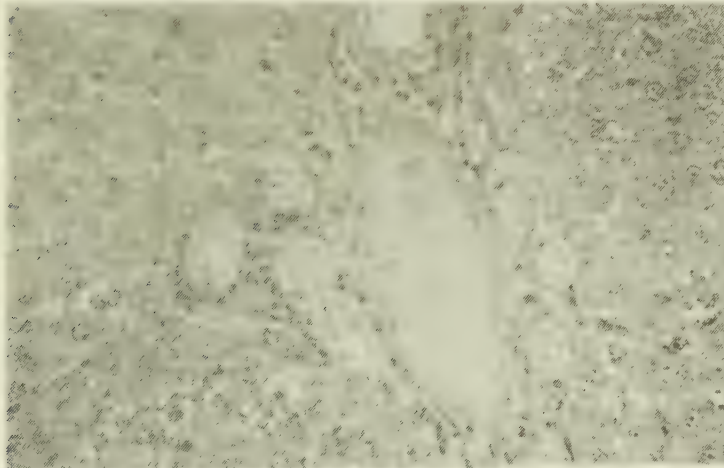


Abb.23: Cholangiolen entwickeln sich sprossenartig aus den Portalfeldern. 48 h nach Gabe von 150 mg ANIT/kg. (HE-Färbung)

Die Vakuolisierung des Cytoplasmas ist weniger geworden. Die Lumina der größeren Gallengänge sind stark erweitert; alle Zeichen einer Cholangiolitis sind verschwunden.

Die einmalige Gabe von ANIT erzeugt eine akute Cholangiolitis mit Destruktion und Schwellung des Gangepithels und einem erheblichen periportalen Ödem. Der Höhepunkt der entzündlichen Veränderungen ist nach 48 h zu beobachten. Intralobulär findet man eine auffällige Sprossung von kleinen Gallergängen und Kapillarneubildungen mit einem Höhepunkt nach 72 h. Gallezylinder und Gallepigment als Zeichen der Cholestase sind nicht zu beobachten.

III.4.E. VORBEHANDLUNG MIT CLOFIBRINSÄURE UND GABE VON ANIT

Die feingewebliche Untersuchung nach 24 h zeigt ein ähnliches Bild wie nach alleiniger ANIT-Gabe, d.h. Ödem und massive Infiltration der Portalfelder. Die Cholangiolen sind destruiert, und das Epithel ist abgeschilfert. Die Hepatocyten erscheinen hypertrophiert. Vereinzelt finden sich intermediär wenige Proliferate von Gallenkapillaren (Abb. 24 und 25).

Nach 40 h sieht man eine massive entzündliche Reaktion im Sinne einer Cholangiolitis. Das Cytoplasma der Hepatocyten erscheint verstärkt gekörnelt; einige vergrößerte Nukleoli sind zu sehen. Mäßig viele Mitosen sind zu beobachten; weiterhin hyalin umgewandelte Einzelzellnekrosen. Intermediär erkennt man Fettvakuolen als Zeichen einer leichten Verfettung. Die oben beschriebene Proliferation von Gallengängen ist sichtbar, möglicherweise in geringerem Umfang als nach alleiniger ANIT-Gabe.

Nach 72 h ist das Ödem zurückgegangen. Portal sieht man eine Cholangiolitis mit Schwellung des Epithels. Bei einigen grossen Gallengängen wird das Epithel sogar mehrschichtig; die Lumina sind erweitert. Auch hier finden sich keine Gallezylinder oder Gallepigment als Zeichen der Cholestase. Die intra-lobuläre Sprossung von Gallenkapillaren hat weiterhin zugenommen. In den Hepatocyten finden sich gehäuft Mitosen (Abb. 26 und 27).



Abb.24: Massives portales Ödem 24 h nach Gabe von 150 mg ANIT/kg und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg. (Goldner-Färbung)



Abb.25: Infiltration eines Portalfeldes 24 h nach Gabe von 150 mg ANIT/kg und siebentägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPIB/kg. Im Leberparenchym sind zahlreiche Mitosen zu beobachten. (HE-Färbung)

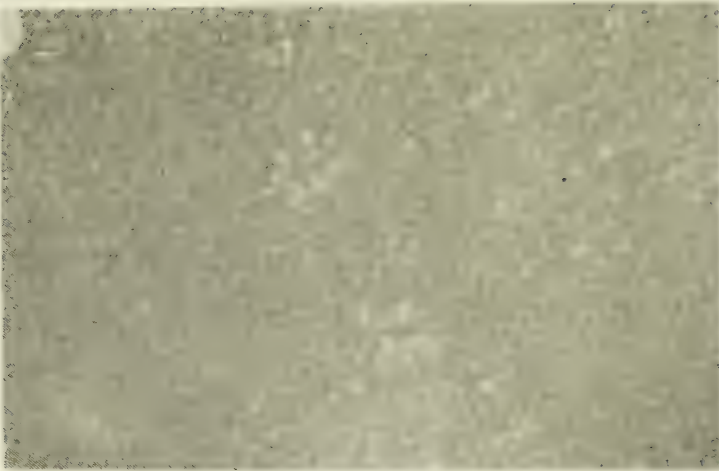


Abb.26: Zunahme der intralobulären Proliferation von Gallenkapillaren 72 h nach Gabe von 150 mg ANIT/kg und zehntägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPB/kg. (HE-Färbung)

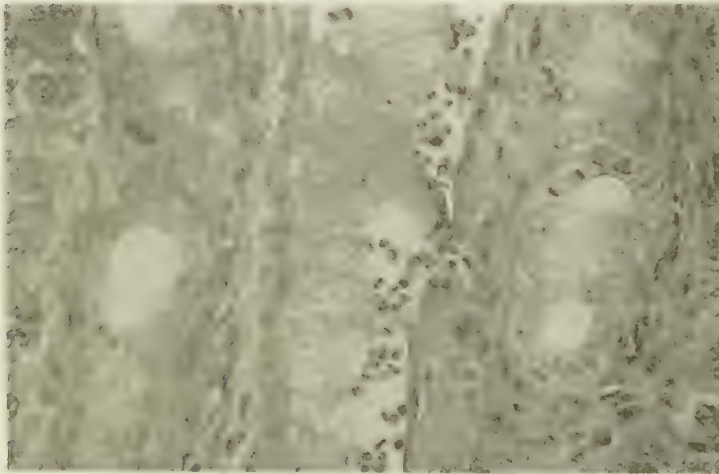


Abb.27: Proliferation von Gallengängen und Mitosen 72 h nach Gabe von 150 mg ANIT/kg und zehntägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPB/kg. Zahlreiche Mitosen im Epithel der Cholangiolen.

Ein weiterer Rückgang der Entzündung bestimmt das histologische Bild nach 96 h. Die größeren Gallengänge sind erweitert, und im Gallengangsepithel sind vereinzelt Mitosen zu beobachten. Die Sprossung von Gallenkapillaren findet sich vorwiegend in der Umgebung der Portalfelder, ist aber etwas zurückgegangen. Das Cytoplasma der Hepatocyten erscheint aufgelockert (Abb. 28).

Nach 120 h ist das massive Ödem verschwunden. Die Portalfelder sind noch etwas verbreitert; man erkennt noch einige wenige Leukocyten und Rundzellen. Die Lunina der Cholangiolen im Portalfeld sind weit, und man sieht einige Mitosen des Gallengangsepithels. Die intralobuläre Sprossung von Gallengängen ist zurückgegangen. Fraglich ist eine leichte entzündliche Reaktion in Form einer zelligen Reaktion in ihrer Umgebung.

Im Vergleich der histologischen Veränderungen mit und ohne Clofibrinsäurevorbehandlung ergibt sich ein ähnliches Bild. Fraglich bleibt eine etwas geringere Ausprägung der Veränderungen nach Gabe von Clofibrinsäure und ANIT zusammen, jedoch kann nicht von einer Schutzwirkung der Clofibrinsäure bei der ANIT-Cholestase gesprochen werden. Andererseits läßt die gleichzeitige Gabe von Clofibrinsäure keine Verstärkung der ANIT-Wirkung erkennen, so daß die Frage nach einer größeren Schädigung durch die gleichzeitige Gabe beider Substanzen, was das histologische Bild anbelangt, verneint werden kann.

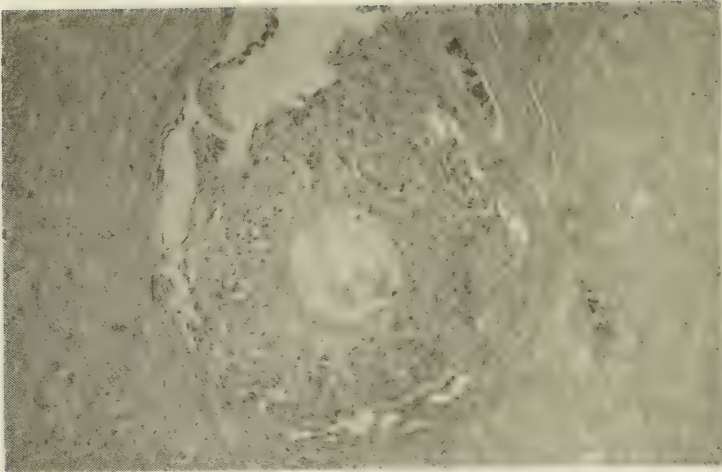


Abb.28:

Proliferiertes mehrreihiges Epithel bei einem größeren Gallengang und ausgeprägtes Ödem 96 h nach Gabe von 150 mg ANIT/kg und elftägiger Vorbehandlung mit 300 mg CPB/kg. (HE-Färbung)

IV. DISKUSSION

IV.1. ZU DEN UNTERSUCHUNGSERGEBNISSEN NACH GABE VON TAA UND CLOFIBRINSÄURE

Die Gabe von TAA führte zu einer deutlich geringeren Nahrungsaufnahme und zu einer Abnahme des Körpergewichts; dies ist in weitgehender Übereinstimmung mit der Literatur (13,28,67,91,95). Die Vorbehandlung mit CPIB bringt hier keine unterschiedlichen Ergebnisse, so daß das TAA in der von uns gewählten Konzentration als die potentere Droge angesehen werden muß. Allerdings berichtet BRODEHL (13) mit der von uns verwendeten Dosis schon nach zwei Tagen vom Tod aller Versuchstiere.

Mit TAA können ähnliche morphologische und biochemische Veränderungen hervorgerufen werden wie beim Leberzerfallskoma (67), jedoch kann nach unseren Untersuchungen nicht gesagt werden, ob entstehende neurotoxische Substanzen die unmittelbare Todesursache sind (78), oder ob andere Faktoren, z.B. eine Nierenschädigung, zum Tode führen (95).

Die Clofibrinsäure bewirkt eine ca. 20%ige Erhöhung des relativen Lebergewichts. In der Literatur schwanken die Angaben, je nach der verwendeten Dosis, der Art der Tiere und der Clofibrinsäure-Applikation zwischen 20 und 50 % (11,25,36,97). Problematisch ist hierbei jedoch das RLG als Parameter einer Lebervergrößerung, da es auf das jeweilige aktuelle Gewicht der Tiere zum Zeitpunkt der Tötung bezogen ist, dieses aber durch die verwendete Substanz, hier TAA, gesenkt wird, so daß der Wert des RLG höher ausfallen kann. Auf dieses "Referenz-Standard-Problem" hat in anderem Zusammenhang PAPPAS (74) hingewiesen.

Histologisch imponiert nach Clofibrinsäure eine Parenchymaunlockerung, die auf einen erhöhten Wassergehalt der Zelle schließen läßt. Auffallend ist der Zeitverlauf des RLG, der am 9.Tag nach Beginn der Clofibratfütterung, d.h. 24 h nach Gabe der Substanz, für alle Behandlungserien einen Tiefpunkt erkennen läßt.

Der Verlauf für die AP und das Gesamt-Bilirubin folgt mit

einer Verzögerung von 24 h dem histologisch sichtbaren Höhepunkt der Nekrosen. Diese Cholestase-anzeigernden Parameter reagieren offensichtlich nur verzögert auf die durch TAA induzierte Schädigung. Die Clofibrinsäure führt hierbei zu keinen signifikanten Unterschieden gegenüber den Kollektiven, die ausschließlich TAA erhalten haben.

Die Gabe von CPIB führt zu keiner Senkung der Cholesterinkonzentration im Serum, sondern lediglich zu Schwankungen um den Normalbereich. Möglicherweise ist der Normalbereich des Cholesterins bei den in unseren Experimenten verwendeten Ratten niedrig (zwischen 20 und 40 mg/dl), wohingegen sich die Serum-Cholesterinwerte nach Behandlung mit Clofibrinsäure durchaus im Bereich des in der Literatur beschriebenen befinden (3,16,25). Die Ursache der niedrigen Cholesterinkonzentration im Serum bei den unbehandelten Ratten bleibt unklar, vielleicht spielt ihr geringes Alter hierbei eine Rolle (3).

Der Verlauf der Cholesterinkonzentrationen der mit TAA behandelten Tiere unterliegt starken Schwankungen, wobei jedoch eindeutige Unterschiede durch die zusätzliche Gabe von CPIB nicht zu beobachten sind. Lediglich die beiden peaks der Cholesterinwerte liegen nach TAA alleine höher. Der Rückgang der Serum-Konzentration nach 48 h kann als ein vorübergehendes Absinken der Syntheseleistung der Leber unter TAA-Einfluß gedeutet werden.

Bei den Triglyzeriden zeigt sich ein ähnliches Phänomen wie bei der Cholesterinkonzentration im Serum: die unbehandelten Kontroll-Ratten haben einen niedrigen Normalbereich der TG-Werte zwischen 18 und 25 mg/dl. Allerdings sind auch in der Literatur die Angaben bezüglich der TG im Serum nicht eindeutig, und im Gegensatz zu den bei Menschen erhobenen Befunden fanden sich bei Untersuchungen an Ratten sowohl Erniedrigung als auch Erhöhung der Serum-TG nach Clofibrinsäure (3,35). Die Vorbehandlung mit CPIB zeigt zur Verabreichung von TAA keine signifikanten Unterschiede. Dies könnte mit dem Einfluß von TAA auf den Proteinstoffwechsel zusammenhängen. Die Oberfläche des Rauhen Endoplasmatischen Retikulums zeigt nach Gabe von TAA eine Abnahme, so daß die Proteinsynthese behindert wird (3, 44). Auch die Gabe von Clofibrinsäure führt zu einer Abnahme

des RER, so daß von einer Abnahme der membrangebundenen Proteinsynthese nach Clofibrinsäuregabe gesprochen werden kann (44). Da die TG-Konzentration im Serum auch vom Angebot an Lipoproteinen abhängt, könnte hier ein Zusammenhang bestehen.

Die Aktivität der Serum-Transaminasen zeigt eine gute zeitliche Verbindung zum histologisch beobachteten Verlauf der Nekrosen, die ihren Höhepunkt 24 h nach Gabe des Giftes haben. SGOT und SGPT zeigen in Übereinstimmung mit der Literatur (19,30) bei alleiniger Gabe von CPIB keine Erhöhung. Im Gegensatz zu Untersuchungen an der Katze, wo der Transaminasenanstieg verzögert auftritt (67), folgt bei den hier vorliegenden Untersuchungen dem steilen Anstieg ein stetiger Abfall, um nach 96 h wieder in den Normalbereich zurückgekehrte Transaminasen zu zeigen. Die Induktion mit Clofibrinsäure führt nach 24 h sogar zu höheren Transaminasenwerten als die Gabe der nekrotisierenden Substanz alleine. Allerdings läßt sich histologisch keine Verstärkung des nekrotisierenden Effekts unter dieser Behandlung feststellen.

Für die erhöhten Serum-Transaminasen bieten sich zwei Erklärungen an: einmal eine verstärkte Zellschädigung und zweitens eine Induktion der Enzyme durch die Clofibrinsäure. Gegen die erste Hypothese der verstärkten Zellschädigung nach TAA und CPIB sprechen die histologischen Ergebnisse, die keine vermehrten Nekrosen erkennen lassen. Auch der vermehrte O_2 -Verbrauch (vgl. LAKER und MAYES, 47) kann nicht als Begründung einer vermehrten Schädigung nach CPIB dienen, da diese sonst auch an anderen Parametern, wie z.B. der Histologie, sichtbar sein müßte. Offenbar spielen sich die Wirkungen von TAA und CPIB an verschiedenen Zellorganellen ab. Die des CPIB mehr an den Mitochondrien und Peroxysomen, und die des TAA mehr an den Mikrosomen (vgl. HUNTER et al., 39), so daß die gemeinsame Gabe kaum zu Beeinflussungen führt. Folglich müssen wir die zweite Möglichkeit einer Induktion von Enzymen in Betracht ziehen. Auch bei Untersuchungen über die CCl_4 -Vergiftung wird von einer verstärkten Synthese als Ursache der Transaminasenerhöhung im Serum gesprochen, ohne daß jedoch die quantitative Diskrepanz

zu den im Gewebe gemessenen Konzentrationen erklärt werden könnte (74,75).

Außer einer Enzym-Induktion könnte es sich auch um eine Aktivierung nach Organschädigung handeln, indem sich die Enzyme von der veränderten Membran besser lösen können und folglich im Serum in höheren Konzentrationen meßbar sind. Auch kann die durch die Gabe von Clofibrinsäure vergrößerte Leber nach Schädigung durch TAA mehr Enzyme an das Blut abgeben, als das nur durch TAA geschädigte Organ. Weiterhin kann die Ursache der erhöhten Serum-Transaminasen in geänderten Halbwertszeiten aufgrund der Eingriffe in den Metabolismus liegen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß von den veränderten Serum-Transaminasen nicht ohne Weiteres auf bestimmte morphologische und funktionelle Veränderungen geschlossen werden kann. Einen weiteren Aufschluß versprechen hier Untersuchungen der auf den Proteingehalt der Leber bezogenen Enzymaktivitäten und die Bestimmung der Transaminasen im Lebergewebe.

Nach den hier vorliegenden Ergebnissen läßt sich kein Schutz einer Vorbehandlung mit Clofibrinsäure vor einer akuten Leberschädigung durch einmalige Gabe von Clofibrinsäure erkennen. Jedoch kann auch von einer Verstärkung der nekrotisierenden Wirkung nicht gesprochen werden. Vielmehr muß von einem Nebeneinander der verschiedenen Wirkungen der unterschiedlichen Substanzen ausgegangen werden.

IV.2. ZU DEN ERGEBNISSEN NACH GABE VON ANIT UND CLOFIBRINSÄURE

Die ANIT-Gabe scheint nur einen geringen Einfluß auf den Futterverbrauch und das Körpergewicht der Ratten zu haben. Im Gegensatz zu anderen Untersuchungen (1,7), die bei der verwandten Dosis von 150 mg ANIT/kg bei etwa 10 % der Tiere den vorzeitigen Tod feststellen mußten, zeigte sich bei uns keine letale Wirkung dieser Dosis während der gesamten Versuchsdauer.

In Übereinstimmung mit der Literatur finden wir einen Anstieg der AP im Serum bei beiden Behandlungsarten mit ANIT mit einem Höhepunkt nach 48 h (23,40,66). Allerdings wird in der Literatur teilweise ein stärkerer Anstieg beschrieben. Die Vorbehandlung mit CPD₁₈ bringt keine Veränderungen gegenüber der alleinigen

Gabe von ANIT, was sich auch mit den histologischen Ergebnissen deckt.

Der Kontrollwert der Bilirubin-Konzentration bei den unbehandelten Tieren ist bei uns mit 0,06 mg/dl sehr niedrig im Vergleich zu dem in der Literatur angegebenen Normalwert von 0,6 mg% (7). Das Ausmaß der Steigerung nach ANIT ist im Rahmen der in der Literatur angegebenen Werte (7,23,31,40,66). Ein Unterschied durch die Clofibrinsäurevorbehandlung ist nicht zu erkennen. Die Ursache dieses Anstiegs ist unklar; einige Autoren nehmen jedoch einen direkten Einfluß des ANIT auf den Hepatocyten an (7,23,40). Auch der beobachtete frühzeitige Beginn des Bilirubinanstiegs, bevor noch die ödematöse Schwellung mit Verschuß des Lumens der Gallenkanälchen ausgeprägt ist, scheint für eine verstärkte Sekretion als Leistung der Hepatocyten zu sprechen. Der nachfolgende Rückgang der Bilirubin-Konzentration im Serum korreliert gut zur Proliferation von Gallenkanälchen, die einen beschleunigten Abfluß des angestauten Produkts ermöglichen. Allerdings ist unklar, wieso die intra-lobuläre Proliferation von Gallenkanälchen so schnell geschieht, welcher Reiz hier wirkt. Hier könnten vermutlich elektronenmikroskopische Untersuchungen weiter führen, die bis jetzt bei der ANIT-Cholestase kaum angewandt wurden.

Der Anstieg der Serum-Konzentrationen des Cholesterins entspricht mit einem Gipfel nach 72 h dem in der Literatur berichteten Verlauf, wenn man das schon vorher bezüglich der bei unseren Versuchstieren insgesamt niedrigeren Normalwerte gesagte in Betracht zieht (23,34,40,57,66).

Während die Hypercholesterinämie auf eine gesteigerte endogene Cholesterinsynthese zurückgeführt wird (43), fehlt für den Verlauf der TG-Konzentration im Serum eine befriedigende Erklärung. Allerdings ist festzuhalten, daß die Behandlung mit Clofibrinsäure auch hier keine Senkung der durch ANIT verursachten erhöhten Werte zu leisten vermag.

Der Höhepunkt der im Serum gemessenen Transaminasen-Aktivitäten fällt mit dem Zeitpunkt der größten, histologisch sichtbaren, entzündlichen Veränderungen zusammen. Er ist nach 48 h erreicht und zeigt sowohl für die SGOT als auch für die SGPT

eine signifikante Steigerung ($p < 0,05$) der mit Clofibrinsäure behandelten Tiere, im Gegensatz zu den allein mit ANIT behandelten Ratten. Im Ausmaß, nicht im zeitlichen Ablauf, gibt es dabei Unterschiede zu den in der Literatur berichteten Werten, die teilweise wesentlich stärkere Anstiege aufweisen (34,40, 53,66). Die Untersuchung der GOT im Lebergewebe und im Serum nach ANIT-Gabe scheint darauf hinzudeuten, daß die erhöhten Serum-Transaminasen hepatischen Ursprungs sind. Allerdings ist ihr Ausmaß nicht erklärbar, so daß der Obstruktion des Gallenabflusses hier eine besondere Bedeutung neben einem nekrotischen Leberzellschaden zugesprochen wird (66). Dies erklärt aber die erhöhten Transaminasen nach Gabe von Clofibrinsäure und ANIT zusammen nicht. Hier müßte der Einfluß von verlängerten Halbwertszeiten nach gemeinsamer Gabe von beiden Substanzen untersucht werden. Jedoch bleibt der genaue Mechanismus hier im Unklaren.

Die ANIT-Cholestase kann als Modell der primären biliären Cirrhose in der experimentellen Leberforschung gute Dienste leisten (40).

Die Clofibrinsäure zeigt weder histologisch noch blutchemisch einen Schutz vor dieser experimentellen Leberschädigung. Inwieweit hier sogar eine Verstärkung der Wirkung stattfindet, bleibt zu untersuchen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Clofibrat bewirkt eine Leberhypertrophie, vorwiegend durch eine Zunahme und ein Wachstum der Peroxysomen. Auf die Funktion dieser Zellorganellen, auch microbodies genannt, wird einleitend eingegangen. Weiterhin induziert die Clofibrinsäure Enzymsysteme mit gesteigerter Fettsäureverbrennung. Sie kann Leberverfettungen beseitigen. Clofibrat ist in der Lage, die nach Cerium Chlorid auftretende Letalität auf Null zu senken. Hohe Dosen Clofibrat können die Encephalopathie nach künstlich angelegtem portocavalem Shunt bei Versuchstieren verhindern. Weiterhin induziert Clofibrat die Reduzierung des Alkoholkonsums bei Alkohol vergifteten Ratten und führt zu einer Steigerung des Alkohol-Metabolismus.

Um die Wirkung an weiteren lebertoxischen Substanzen zu beobachten, wurde eine Clofibrinsäureinduktion bei Gabe des nekroseerzeugenden Leberzellgiftes Thioacetamid und der eine Cholangiolitis erzeugenden Substanz ANIT untersucht. Männliche Wistar-Ratten wurden sieben Tage lang mit 300 mg Clofibrinsäure/kg vorbehandelt, d.h. induziert. Am 8.Tag erhielten sie einmalig 400 mg Thioacetamid/kg oder 150 mg ANIT/kg oral. Die Tiere wurden in Abständen von 24 h 1-5 Tage danach getötet und während des 8. bis 12. Versuchstages weiter mit Clofibrinsäure behandelt. Folgende Parameter wurden untersucht: Relatives Lebergewicht, Körpergewicht, Futterverbrauch, SGOT, SGPT, AP, Bilirubin, Triglyzeride, Cholesterin und Leberhistologie.

Folgende Ergebnisse wurden festgestellt:

1. Das Relative Lebergewicht lag bei den mit Clofibrinsäure behandelten Tieren deutlich höher als bei den nur mit TAA oder ANIT behandelten.
2. Die mit Thioacetamid und mit CPIB behandelten Tiere zeigten eine deutliche Erhöhung der SGOT bis 3854 U/l und der SGPT bis 1576 U/l.
3. Histologisch war die Ausdehnung der Nekrosen jedoch nicht größer als bei alleiniger Gabe von TAA.
4. Die Gabe von ANIT und die Vorbehandlung mit Clofibrinsäure

führte zu einem starken Anstieg bei der AP bis 1687 U/l, beim Bilirubin bis 4,28 mg/dl und bei der Cholesterinkonzentration im Serum bis 187 mg/dl, ohne daß sich zur alleinigen Gabe der Substanz signifikante Unterschiede feststellen ließen.

Bei den Transaminasen im Serum führte die Vorbehandlung mit Clofibrinsäure und die Gabe von ANIT zu signifikant höheren Werten als die alleinige Gabe der Substanz.

5. Histologisch findet man nach Gabe von ANIT eine akute Cholangiolitis und eine zunehmende Proliferation von kleinen Gallekanälchen. Die Clofibrinsäureinduktion bewirkt hier keine wesentlichen Unterschiede.

Clofibrat besitzt demnach keine Schutzwirkungen vor den histologisch sichtbaren Veränderungen an der Leber durch die verwendeten Substanzen ANIT und TAA. Jedoch ist auch eine Verstärkung der Nekrosen oder der Cholangiolitis durch die Clofibratgabe nicht gesichert.

In der Diskussion werden als mögliche Ursachen der erhöhten Serumtransaminasen beim Fehlen gravierender histologischer Differenzen angeführt:

1. Eine verstärkte Zellschädigung, die jedoch trotz des gesteigerten O_2 -Verbrauchs fraglich ist, da sie histologisch sichtbar sein müßte.
2. Die Induktion der unterschiedlichen Enzyme SGOT, SGPT und AP durch CPIB.
3. Eine Aktivierung nach Organschädigung und CPIB, indem sich die Enzyme von der geschädigten Membran leichter ablösen können und folglich im Serum in höheren Konzentrationen meßbar sind.
4. Geänderte Halbwertszeiten nach Gabe der Substanzen.

Weitere Untersuchungen zur Klärung dieser Fragen sind erforderlich.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AMBROSE, A.M.
MILLER, A.J. Toxicological and Pathological Studies on Alpha Naphthyl Isothiocyanate. Fed.Proc. Vol.2,1943,p.74
2. ANGHILERI, L.J.
HEIDBREDE, M.
WEILER, G.
DERMIETZEL, R. Hepatocarcinogenesis by Thioacetamid: Correlations of Histological and Biochemical Changes and Possible Role of Cell Injury. Expl.Cell.Biol. 45,1977,p.34
3. ANTHONY, L.E.
SCHMUCKER, D.L.
MOONEY, J.S.
JONES, A.L. A Quantitative Analysis of Fine Structure and Drug Metabolism in Livers of Clofibrate-treated Young Adult and Retired Breeder Rats. J.Lipid Res. Vol.19,1978,p.154
4. AXELSON, O.
TAGESSON, C. The Clofibrate Problem: A Different Viewpoint. Lancet, Nov.15,1980,p.1081
5. BALWIN, J.R.
WITIAK, D.T.
FELLER, D.R. Disposition of Clofibrate in the Rat. Biochem.Pharmacol. Vol.29,1980,p.3143
6. BARNARD, S.D.
MOLLELLO, J.A.
CALDWELL, W.J.
LE BEAU, J.E. Comparative Ultrastructural Study of Rat Hepatocytes after Treatment with the Hypolipaeic Agents Probucol, Clofibrate and Fenofibrate. J.Tox.Env.Health 6,1980,p.547
7. BECKER, B.A.
PLAA, G.L. Quantitative and Temporal Delineation of Various Parameters of Liver Dysfunction Due to α -Naphthylisothiocyanate. Toxicol.Appl.Pharmacol. 7,1965,p.703
8. BECKER, V.
WALTER, W. Die Wirkung von Thioacetylverbindungen auf das Leberparenchym im Tierexperiment. 129 Acta hepatosplen. Vol.12,No.3,1965,p.
9. BECKETT, R.B.
WEISS, R. Studies on the Hepatomegaly Caused by the Hypolipidemic Drugs Nafenopin and

- STITZEL, R.E. Clofibrate.
- CELEDELLA, R.J. Toxicol. Appl. Pharmacol. 23, 1972, p. 42
10. BERRY, M.N. Role of Peroxysomes in Hepatic Fatty Acid Oxidation.
- FANNING, D.C. Proc. Austr. Biochem. Soc. Vol. 13, 1980,
- GRIVELL, A.R. p. 57
- THOMPSON, J.E.
- WALLACE, P.G.
11. BEST, M.M. Lipid Effects of a Phenolic Ether (Su-13437) in the Rat: Comparison with CPIB.
- DUNCAN, C.H. Atherosclerosis 12, 1970, p. 185
12. BORREBAEK, B. In Vivo Induction of 4-Enoyl-CoA Reduc-
- OSMUNDSEN, H. tase by Clofibrate in Liver Mitochon-
- BREMER, J. dria and its Effects on Pent-4-Enoate Metabolism.
- Biochem. Biophys. Res. Comm. Vol. 93, No. 4, 1980, p. 1173
13. BRODEHL, J. Thioacetamid in der experimentellen Leberforschung.
- Klin. W'schrift Jg. 39, H. 18, 1961, p. 956
14. BURKE, C.L. Clofibrate Feeding Increases the Acti-
- HAJRA, A.K. vities of Rat Liver Dihydroxyacetone Phosphate Acyltransferase and Glycerol -3-Phosphate Acyltransferase.
- Biochem. Int. Vol. 1, No. 4, 1980, p. 312
15. CEDERBAUM, A.I. Effects of Clofibrate on Mitochondrial Function.
- RUBIN, E. Biochem. Pharmacol. Vol. 23, 1974, p. 1985
16. CHHABRA, S. Effect of Clofibrate Administration on Metabolic Changes in the Starving Rat.
- AHMED RASHEED, B.K. I. J. Biochem. Biophys. vol. 16, 1979, p. 384
- RAMAKRISHNA KURUP
17. CHRISTIANSEN, R.Z. The Effect of Clofibrate-Feeding on Hepatic Fatty Acid Metabolism.
- Biochem. Biophys. Acta 539, 1978, p. 314
18. CORTESSE, A. Prevention of Hepatic Encephalopathy by Clofibrate in the Rat with Porto-
- FRANCO, D. caval Anastomosis.
- BEAUBERNARD, C.
- MIRAMAND, J.L.

- SALOMON, F. Surgery, Nov. 1980, p. 654
- GIGOU, M.
- BISMUTH, H.
19. DAVID, A. Contenu en Acides Nucleiques des Cel-
lules Hepatiques au Cours D'Hepatome-
galies Experimentales Induites par des
ROZE, C. Hypolipemiants chez le Rat.
CHARIOT, J. Gastroenterol. Clin. Biol. 3, 1979, p. 821
HOLLANDE, E. Wissenschaftliche Tabellen - Documenta
Geigy, 7. Ausg., Stuttgart 1975, p. 125/
193
20. DIEM, K. Peroxysomes (Microbodies and Related
LENTNER, C. (Red.) Particles).
Physiol. Rev. 46, 1966, p. 323
21. DE DUVE, C. Effects of Clofibrate Administration
BAUDHUIN, C. to Rats on their Hepatocytes.
Exper. Mol. Pathol. 32, 1980, p. 115
22. EGGENS, I. Experimental Intra-Hepatic Obstructive
BRUNK, U. Jaundice Following Ingestion of Alpha-
DALLNER, G. Naphthyl-Iso-Thiocyanate.
Bull. Res. Counc. of Israel Vol. 8, E,
1959, p. 7
23. ELIAKIM, M. A Comparison of Hypolipidemic Drugs in
EISNER, M. the Prevention of an Orotic Acid Fatty
UNGAR, H. Liver.
Bull. Res. Counc. of Israel Vol. 8, E,
1959, p. 7
24. ELWOOD, J. C. Vergleich zwischen den Wirkungen von
RICHERT, D. A. Clofibrat und Bezafibrat auf die Ultra-
WESTERFELD, W. W. struktur von Rattenherz und Rattenleber.
in: Lipoproteine und Herzinfarkt, hrsgg.
von H. Greten, P. D. Lang, G. Schettler,
Baden-Baden, Köln, New-York 1979, p. 67
25. FAHIMI, H. D. Effects on Different Chemicals on
KALMBACH, P. Thioacetamid-Induced Liver Necrosis.
STEGMEIER, K. Toxicology 16, 1980, p. 205
STORK, H. Liver Tumors in Rats Fed Thiourea or
Thioacetamide.
Science Vol. 108, Dec. 1948, p. 626
26. DE FERREYRA, E. C.
- DE FENOS, O. M.
- CASTRO, J. A.
27. FITZHUGH, O. G.
- NELSON, A. A.

28. GALLAGHER, C.H.
GUPTA, D.N.
JUDAH, J.D.
REES, K.R.
Biochemical Changes in Liver in Acute Thioacetamide Intoxication.
J.Path.Bact. 72, 1956, p.193
29. GAMBLE, W.
Mechanism of Action of Hypolipidemic and Herbicidal Aryloxy Acids.
J.Theor.Biol. 54, 1975, p.1-11
30. DE GENNES, J.L.
TRUFFERT, J.
PERIAC, P.
Elevations des Transaminases glutamopyruviques sous Traitement par Procetofene des Hyperlipidemies idiopathiques.
La Nouvelle Presse Medicale 7, No.27, 1978, p.2398
31. GINOCCHIO, A.V.
METZ, G.
Hypolipaeic Activity of 1-(Theophyllin-7-yl)-ethyl-2-(2-(p-chlorophenoxy)-2-methylpropionate) (Etofylline Clofibrate) and its Analogues in Normolipaeic Rats.
Drug Res. 30(II), No.11b, 1980, p.2032
32. GOLDENBERG, H.
HÜTTINGER, M.
KAMPFER, P.
KRAMAR, R.
PAVELKA, M.
Effects of Clofibrate Administration on Morphology and Enzyme Content of Liver Peroxisomes.
Histochemistry 46, 1976, p.189
33. GRASEDYCK, K.
LINDNER, J.
Die chronische Thioacetamid-Intoxikation als Modell einer experimentellen Leberzirrhose.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 82, 1977, p.347
34. GRÜN, M.
Über den Einfluß der Proteinsynthese in der Leber auf die Entwicklung des cholestatischen Ikterus unter ANIT.
Diss. Gießen, 1970
35. HANEFELD, M.
KEMMER, C.
LEONHARDT, W.
KUNZE, K.D.
JAROSS, W.
HALLER, H.
Effects of p-Chlorophenoxyisobutyric Acid (CPIB) on the Human Liver.
Atherosclerosis 36, 1980, p.159

36. HESS, R. Nature of the Hepatoregalic Effect
STÄUBLI, W. produced by Ethyl-Chlorophenoxyiso-
RIESS, W. Eutyrate in the Rat.
Nature Vol. 208, 1965, p. 856
37. HOLLOWAY, B. R. The Effect of Hypolipidaemic Agents on
ORTON, T. C. Hepatic Peroxysomal and Microsomal
Drug Metabolizing Enzymes in Relation
to Thyroxine Modulation.
Br. J. Pharmacol. Vol. 62, 2, 1980, p. 318
38. VAN HOOFF, F. Protection of Rats against Hypoglycin
HUE, L. and Pent-4-enoate Toxicity by Pre-
SHERRATT, H. S. A. treatment with Clofibrate.
Biochem. Soc. Trans. 7, 1979, p. 163
39. HUNTER, A. L. Thioacetamide-Induced Hepatic Necrosis.
HOLSCHEER, M. A. J. Pharmacol. Exp. Ther. vol. 200, No. 2,
NEAL, R. A. 1977, p. 439
40. KATTERMANN, R. Leberschaden und Lipidstoffwechsel. I.
WÖRNER, R. Lipide, Bilirubin und Enzymaktivitäten
BRUNNER, G. im Plasma bei der experimentellen
HUNSTEIN, W. Cholestase an der Ratte.
Acta hepatosplen. 17, 1970, p. 35
41. KATTERMANN, R. Leberschaden und Lipidstoffwechsel. II.
REIMOLD, W. V. Biosynthese von Cholesterin, Phospholi-
piden und Glyzeriden in der Leber bei
der experimentellen Cholestase an der
Ratte.
Acta hepatosplen. 17, 1970, p. 75
42. KÄHÖNEN, M. T. Clofibrate-Induced Increase in Carnitine
and Acylcarnitine Content in Rats.
Biochem. Pharmacol. 28, 1979, p. 3674
43. KÄHÖNEN, M. T. Effects of Clofibrate and Gemfibrozil
YLIKAHRI, R. H. on the Activities of Mitochondrial
Carnitine Acyltransferases in Rat Liver.
Atherosclerosis 32, 1979, p. 47
44. KOLDE, G. Effects of Clofibrate on Male Rat Liver.
ROESSNER, A. Virchows Archiv B, Cell. Path. 22, 1976,
THEMANN, H. p. 73

45. KRISHNAKANTHA, T.P. Increase in Hepatic Catalase and Glyc-
RAMAKRISHNA KURUP, erol Phosphate Dehydrogenase Activities
C.K. on Administration of Clofibrate and
Clofenapate to the Rat.
Biochem. J. 130, 1972, p. 167
46. KRISHNAKANTHA, T.P. Effect of Administration of Clofibrate
MOHAN, V.P. and Clofenapate on Oxydative Phosphor-
SUVIDA CHHABRA ylation by Liver Mitochondria in the
RAMAKRISHNA KURUP, Rat.
C.K. Ind. J. Biochem. Biophys. 12, 1975, p. 31
47. LAKER, M.E. The Immediate and Long-Term Effects
MAYES, P.A. of Clofibrate on the Metabolism of the
Perfused Rat Liver.
Biochem. Pharmacol. 28, 1979, p. 2813
48. LAMBOEUF, Y. Effects of Cyanamide and Clofibrate on
DE SAINT BLANQUAT, the Enzymes of Ethanol Oxydation and
G. on Ethanol Consumption in the Rat.
Arch. Int. Pharmacodyn. 243, 1980, p. 17
49. LANG, P.D. Zum Wirkungsmechanismus von Clofibrat.
Ther. d. Gegenw. 114, 1975, p. 204
50. LAZAROW, P.B. A fatty Acyl-CoA oxidizing System in
DE DIJVE, C. Rat Liver Peroxisomes; enhancement by
Clofibrat, a Hypolipidemic Drug.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 73, No. 6,
1976, p. 2043, Cell Biology
51. LAZAROW, P.B. Three Hypolipidemic Drugs increase
Hepatic Palmitoyl-CoA Oxidation in
the Rat.
Science No. 4303, 1977, p. 580
52. LEEB, P. J. New Observations on Microbodies.
WOOD, R.L. J. Cell Biol. 45, 1970, p. 118
53. LEINEWEBER, B. Histologische Befunde und Protein-
RICHTER, C. synthese der Rattenleber bei ANIT-
RUB, H.A. Cholestase.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 75, 1969, p. 365
54. LEINEWEBER, W. Einfluß einer Phenobarbitalbehandlung
MÜHLEKAMP, H. auf die Gesamt- und Einzelgallensäuren
ERB, W. in Serum und Leber von gesunden Ratten

- und Ratten mit einer ANIT-Cholestase.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 79,1973,p.955
55. LEVY,R.I. Drugs Used in the Treatment of Hyperlipoproteinaemias.
in: Goodman/Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 6th ed., 1980,p.840
56. LEWIS,N.J. Influence of Hepatic Drug Metabolism in
WITIAK,D.T. Male Rats.
FELLER,D.R. Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 145,1974,p.281
57. LIEHR,H. Einfluß einer Mesenchymaktivierung auf
GRÜN,M. die Proteinsynthese der Leber.
LEINWEBER,B. Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 76,1970,P.1138
RICHTER,E.
KÜHN,H.A.
58. MACKERER,C.R. Effect of Clofibrate Administration on
Several Biochemical Parameters on Normal
and Thyroidectomized Rats.
Biochem.Pharmacol. 26,1977,p.301
59. MACKERER,C.R. Effect of Sub-Acute Administration of
Clofibrate on the Oxidation of Fatty
Acids by Liver Mitochondria.
Biochem.Pharmacol. 26,1977,p.2225
60. MARKWELL,M.A.K. The Subcellular Distribution of Carnitine
MCGROARTY,E.J. Acyltransferases in Mammalian Liver and
BIEBER,L.I. Kidney.
TOLBERT,N.E. J.Biol.Chem. 248,No.10,1973,p.3426
61. MARKWELL,M.A.K. Differential Increase of Hepatic Peroxy-
BIEBER,L.I. somal,Mitochondrial and Microsomal
TOLBERT,N.E. Carnitine Acyltransferases in Clofibrate
Fed Rats.
Biochem.Pharmacol. 26,1977,p.1697
62. MASTERS,C. Peroxisomes: New Aspects of Cell Physiology
HOLMES,R. and Biochemistry.
Physiol.Rev. Vol.57,No.4,1977,p.816
63. MASTERS,J.C. Peroxisomes-their Metabolic Roles in
HOLMES,R.S. Mammalian Tissues.

64. MAZZANTI, L.
LOPEZ, M.
In Tema di Epatopatie Sperimentali:
Sui Rapporti tra Lesione Epiteliale
e Proliferazione Mesenchimale nelle
Fibrosi da Alfa-Naftil-Isotiocianato.
Arch. Oncol. Anat. Pat. 17, No. 146, 1988, p. 833
65. MOODY, D.E.
REDDY, J.K.
Increase in Hepatic Carnitine Acyl-
transferase Activity Associated with
Peroxisomal (microbody) Proliferation
induced by the Hypolipidemic Drugs
Clofibrate, Nafenopin and Methyl Clof-
enapate.
Res. Comm. Chem. Path. Pharm. 9, No. 3, 1974,
p. 501
66. MORAN, E.
ELIAKIM, M.
SLUCHOWSKI, A.
UNGAR, H.
Serum Vitamin B₁₂ and Glutamic-Oxal-
acetic Transaminase in Experimental
Intrahepatic Jaundice.
Gastroenterology 40, 1961, p. 108
67. MÜNZENMAIER, R.
FISCHER, E.
LOEWE, K.R.
Experimentelle Thioazetamid-schädigung
der Katze als Modell des Leberzerfalls.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 59, 1975, p. 453
68. NOVIKOFF, P.M.
ROHEIM, P.S.
NOVIKOFF, A.B.
EDELSTEIN, B.
Production and Prevention of Fatty Liver
in Rats fed Clofibrate and Orotic Acid
Diets Containing Sucrose.
Lab. Invest. 36, No. 6, 1974, p. 732
69. NOVIKOFF, P.M.
EDELSTEIN, D.
Reversal of Orotic-Acid - Induced Fat-
ty Liver in Rats by Clofibrate.
Lab. Invest. 36, No. 2, 1977, p. 215
70. NYITRAY, M.
SZASZOVSKY, E.
DRUGA, A.
Clofibrate and the Development of Rats.
Arch. Toxicol. , Suppl. 4, 1980, p. 463
71. ODUM, J.
ORTON, T.C.
Rat Hepatic Microsomal Cytochrome(s)
P-450 Induced by Clofibrate.
B.J. Pharmacol. 69, No. 2, 1980, p. 317
72. OLIVER, M.F.
A Co-operative Trial in the Primary
Prevention of Ischemic Heart Disease
using Clofibrate.
Brit. Heart J. 40, 1978, p. 1069

73. PANDE, S.V.
PARVIN, R.
Clofibrate Enhancement of Mitochondrial
Carnitine Transport System of Rat Liver
and Augmentation of Liver Carnitine and
 γ -Butyrobetaine Hydroxylase Activity
by Thyroxine.
Biochem. Biophys. Acta 617, 1980, p. 363
74. PAPPAS, N.J.
Increase Rat Liver Homogenate, Mito-
chondrial and Cytosolic Aspartate
Aminotransferase Activity in Acute
Carbon Tetrachloride Poisoning.
Clin. Chim. Acta 106, 1980, p. 223
75. PAPPAS, N.J.
Response of Rat Liver Aspartate Amino-
transferase to Carbon Tetrachloride.
Res. Comm. Chem. Path. Pharm. 31, No. 3,
1981, p. 475
76. PLAA, G.L.
Quantitative Aspects in the Assessment
of Liver Injury.
Environm. Health Persp. 15, 1976, p. 39
77. PLATT, D.S.
COCKRIILL, J.L.
Changes in the Liver Concentrations of
the Nicotinamide Adenine Dinucleotide
Coenzymes and in the Activities of
Oxidoreductase Enzymes following Treat-
ment of the Rat with Ethyl Chloro-
phenoxyisobutyrate (Atromid-S).
Biochem. Pharmacol. 15, 1966, p. 927
78. PUGSLEY, T.
LIPPMAN, W.
Effects of Clofibrate on Biogenic
Amine Levels and Turnover.
Pharmacol. Res. Comm. 8, No. 6, 1976, p. 565
79. REDDY, J.
SVOBODA, D.
Proliferation of Microbodies and Syn-
thesis of Catalase in Rat Liver.
Am. J. Path. 63, 1971, p. 99
80. REDDY, J.K.
Possible Properties of Microbodies
(Peroxisomes), Microbody Proliferation
and Hypolipidemic Drugs.
J. Histochem. Cytochem. 21, No. 11, 1973,
p. 967
81. REDDY, J.
Further Evidence to Suggest that

- SVOBODA, D. Microbodies do not exist as Individual Entities.
Am. J. Pathol. 70, No. 4, 1973, p. 401
82. REDDY, J. K. Hepatic Peroxysome Proliferation:
KRISHNAKANTHA, J. P. Introduction by two novel Compounds,
Structurally unrelated to Clofibrate.
Science 190, 1975, p. 767
83. REDDY, J. K. Rapid Development of Hyperplastic
RAO, M. S. Nodules and Cirrhosis in the Liver of
JAGO, M. V. Rats Treated Concurrently with Thio-
acetamide and the Pyrrolizidine Alkaloid
Lasiocarpine.
Int. J. Cancer 17, 1976, p. 621
84. REDDY, J. K. The Peroxysome Proliferation-Associated
KUMAR, N. S. Polypeptide in Rat Liver.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 77, No. 3, 1977
p. 824
85. REDDY, J. K. Stimulation of Catalase Synthesis and
KUMAR, N. S. Increase of Carnitine Acetyltransferase
Activity in the Liver of Intact Female
Rats Fed Clofibrate.
J. Biochem. 85, 1979, p. 247
86. RICHTER, E. Proteinsynthese und Ikterus bei der
GRÜN, M. ANIT-Cholestase der Ratte.
KÜHN, H. A. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 75, 1969, p. 367
87. RICHTER, E. Arzneimittelmetabolismus bei tierex-
GRÜN, M. perimenteller Cholestase.
ZILLY, J. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 78, 1972, p. 1402
- BRACHTEL, D.
KÜHN, H. A.
88. ROBERTS, R. J. Studies on Bilirubin Production and
PLAA, G. L. Excretion in Mice and Rats Treated with
Phenobarbital, Chlorpromazine, Norethan-
drolone, Acetohexamide or Enovid.
Toxicol. Appl. Pharm. 15, 1969, p. 483
89. ROSE, G. Plasma Lipids and Mortality: A Source
SHIPLEY, M. J. of Error.
Lancet, March 8, 1980, p. 523

90. ROZE, C. Action de Deux Hypolipmiants sur le
 SOUCHARD, M. Foie du Rat Atteint d'une Hepatite a
 CUCHET, P. la Galctosamine.
 VAILLE, C. J.Pharmacol.(Paris) 11, No.1, 1980, p.57
91. SACHS, H.W. nistochenische Untersuchungen zur
 BÄUMER, A. Giftwirkung des Thioacetamid auf die
 MENKHAUS, G. Rattenleber.
 Acta hepatosplen. 6, 1959, p.266
92. SCHLICHT, I. Untersuchungen über die experimentelle
 Leberdystrophie in Hypothermie. in:
 Verh.Dtsch.Ges.Verd.- und Stoffwechsel-
 krankheiten, 25.Tagung(24.-27.9.1969),
 1971, p.163
93. SCHLICHT, I. Die experimentelle Leberdystrophie in
 protrahierter Hypothermie. Untersuch-
 ungen mit Tetrachlorkohlenstoff und
 Thioacetamid.
 Z.ges.exp.Med. 156, 1971, p.163
94. SCHLICHT, I. Autoradiographische und radiochroma-
 tographische Untersuchungen der Ver-
 teilung und des Stoffwechsels von
 Thioacetamid.
 Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmak.
 369, 1971, p.310
95. SCHWIETZER, C.H. Die Erzeugung experimenteller Leber-
 SCHAETZ, G. cirrhosen durch Thioacetamid.
 4.Freiburger Symposion 1956, p.163
96. SPRITZ, N. Decrease of Ethanol-Induced Fatty
 LIEBER, C.S. Liver by Ethyl-a-p-Chlorophenoxyiso-
 butyrate.
 Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 111, 1966, p.147
97. SVOBODA, D.J. Response of Hepatic Microbodies to a
 AZARNOFF, D.L. Hypolipidemic Agent Ethyl Chlorophen-
 oxyisobutyrate(CPIB).
 J.Cell.Biol. 30, 1966, p.442
98. SVOBODA, D. Microbodies in Experimentally Altered
 AZARNOFF, D. Cells.
 REDDY, J. J.Cell.Biol. 3, 1969, p.734

99. TAKADA, Y.
NOGUCHI, T. Increase in Hepatic Pyruvate (Glyoxylate) Activity on Administration of Clofibrate to the Rat.
Biochem. Pharmacol. 30, 1981, p. 393
100. THORP, J. M.
WARING, W. S. Modification of Metabolism and Distribution of Lipids by Ethyl Chloropropoxyisobutyrate.
Nature 19, June 1962, p. 948
101. TSUKADA, H.
MOCHIZUKI, Y.
ITABASHI, M.
GOTOH, M.
MORRIS, H. P. Response of Microbodies in Morris Hepatoma 9618 A to Clofibrate.
J. Natl. Cancer Inst. 55, 1976, p. 153
102. TUCHWEBER, B.
SALAS, M. Prevention of $CeCl_3$ -Induced Hepatotoxicity by Hypolipidemic Compounds.
Arch. Toxicol. 41, 1978, p. 223
103. TUCHWEBER, B.
SIECK, R.
TROST, W. Prevention by Sylibin of Phalloidin-Induced Acute Hepatotoxicity.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 51, 1979, p. 265
104. UNGAR, H.
MORAN, E.
EISNER, M.
ELIAKIM, M. Rat Intrahepatic Biliary Tract Lesions from Alpha-Naphthyl-Isothiocyanate.
Arch. Path. 73, 1962, p. 85
205. VOLTTI, H.
HASSINEN, I. E. Effect of Clofibrate on the Hepatic Concentrations of Citric Acid Cycle Intermediates and Malonyl-CoA in the Rat.
Life Sciences 28, 1981, p. 47
106. WATANABE, T.
SUGA, T. Studies on Peroxisomes. IX.
J. Biochem. 87, 1980, p. 1595
107. YESHURUN, D.
GOTTO, Jr. A. M. Drug Treatment of Hyperlipidemia.
Am. J. Med. 60, 1976, p. 379
108. ZIPPER, J.
JANOWSKI, K.
GÜRES, E. Peroxisomeninduktion durch Clofibrinsäure und Bis(p-Chlorophenoxy)Essigsäure.
Pharmazie 34, H. 5/6, 1979, p. 366

LEBENS LAUF

Am 17.Dez.1952 wurde ich in Aachen als Kind von Luise und Reinhold Schneiders geboren. Besuch der Volksschule von 1959 bis 1963 in Aachen und Düren. Bis 1971 Besuch des Stift.Gymnasiums in Düren; Abitur dort am 17.5.1971. Von Sommer 1971 bis Herbst 1972 Wehr- und Zivildienst. Ab Herbst 1972 Studium der Wirtschaftswissenschaften in Aachen, Köln und Frankfurt/M. Im Frühjahr 1977 erhielt ich die Zulassung zum Medizinstudium in Köln. Ab Wintersemester 1977/78 Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin. Praktisches Jahr in Berlin 1982/83.

Am 25.4.1983 legte ich das Dritte Medizinische Staatsexamen ab. Am 6.5.1983 Approbation als Arzt.

DANKSAGUNGEN

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof.Dr.Irmgard Schlicht für die Überlassung eines Themas aus ihrem Forschungsgebiet. Weiterhin danke ich Herrn Prof.Averdunk für die freundliche Hilfe bei der Benutzung des SMAC-Systems im Zentrallabor des Klinikum Charlottenburg.

Unverzichtbar war die technische Hilfe von Herrn L.Jorno aus dem Labor für experimentelle Hepatologie, ohne den diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.

